Jod, ein brauchbares mikrochemisches Reagens für Gerbstoffe

insbesondere zur Darstellung des Zusammenhanges in der Verteilung von Gerbstoff und Stärke in pflanzlichen Geweben

Von

Adolf Sperlich

Aus dem botanischen Institut der k. k. Universität Innsbruck

(Mit 1 Tafel und 2 Textfiguren)

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Jänner 1917).

Jod als Reagens für Gerbstoffe in pflanzlichen Geweben wurde zuerst von Sanio, und zwar in Chlorzink gelöst, angewendet. Nachdem der Forscher in der noch heute mit Vorliebe benutzten wässerigen Lösung von Kalibichromat ein Reagens von wiederholt betonten Vorzügen gefunden hatte,¹ trat die Verwendung des Jods als mikrochemisches Gerbstoffreagens in der Pflanzenanatomie zurück. Wenn wir von der zweifellos auf einem Irrtum beruhenden Mitteilung des verdienten Holzanatomen Theodor Hartig, nach welchem eine gewisse Form des "Gerbmehles" bei Behandlung mit Jodlösungen Blaufärbung annehmen soll,² absehen, so gibt uns die Literatur erst seit 1884 wieder von der Verwendung des Jods zum Gerbstoffnachweise Kunde. Damals wurde durch den Chemiker O. Nasse die zum Nachweise bestimmter Gruppen von "dreifach hydroxylierten Benzolderivaten" in

¹ C. Sanio, Einige Bemerkungen über den Gerbstoff und seine Verbreitung bei den Holzpflanzen. Botan. Zeitung, 21, 1863, p. 17 und 18.

² Th. Hartig, Das Gerbmehl. Botan. Zeitung, 23, 1865, p. 54.

pflanzlichen Extrakten dienliche »Jodpyrogallolreaktion« entdeckt.1 Die Reaktion besteht darin, daß Lösungen von Tannin, Gallussäure, Pyrogallol und wohl wahrscheinlich auch anderer ihrer Abkömmlinge und Verwandten bei Anwesenheit von neutralen oder sauren, das Tannin weder färbenden noch fällenden Salzen durch Jodlösung schön purpurrot gefärbt werden. Diese Färbung geht in ein schmutziges Braun um so schneller über, je wärmer die Flüssigkeit ist. Gregor Kraus, der mit einigen Schülern an der Bearbeitung der Gerbstofffrage reichlich Anteil genommen, wandte zum Teil mit befriedigendem Erfolge Jodlösungen zum mikrochemischen Nachweis der Gerbstoffe an,2 während W. Zopf auf Grund der Anwendung aller üblichen Gerbstoffreagentien unter besonderer Hervorhebung der prächtigen Niederschlagsbildung mit Jodjodkalium, das schon damals in den bekannten Behrens'schen Tabellen 3 unter den Gerbstoffreagentien erscheint, zunächst zu einer ganz irrigen Auffassung über den Inhalt der Fumariaceenschlauchzellen gelangt war.4

¹ O. Nasse, Eine neue Pyrogallolreaktion. Ber. der Deutschen chem. Gesellsch., XVII., 1884, p. 1166.

² G. Kraus, Botan Mitteilungen Abhandl der Naturf Gesellsch. Halle a. S., XVI., 1885, p. 372.

³ Behrens, Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen im botanischen Laboratorium, Braunschweig 1885, p. 371.

⁴ W. Zopf, Über die Gerbstoff- und Anthocyanbehälter der Fumariaceen und einiger anderer Pflanzen. Bibliotheca botanica, 2. Heft, Cassel (Theod. Fischer) 1886; vgl. p. 13 und 27. Auf den Irrtum, der sich schon im Titel der Abhandlung offenbart, hat Heinricher aufmerksam gemacht Vorläufige Mitteilung über die Schlauchzellen der Fumariaceen. Ber. der Deutschen bot. Gesellsch., V., 1887, p. 233 ff.), was dann Zopf zu erneuten Studien veranlaßte (Zur physiologischen Deutung der Fumariaceenbehälter, Ber. der Deutschen bot. Ges., IX., 1891, p. 107 ff.), in welchen als Inhalt der betreffenden Zellen ein kompliziertes Stoffgemisch erkannt wurde, an dem Gerbstoffe fast gar keinen Anteil haben. Daß weder Eiweißstoffe noch Stärke noch Gerbsäure am Inhalte der Schlauchzellen beteiligt sind, hatte Heinricher schon viel früher erkannt (Die Eiweißschläuche der Cruciferen und verwandte Elemente in der Rhoeadinenreihe. Mitteil. des Botan. Inst. zu Graz, I., 1886, p. 51 des Sonderdruckes). Vgl. auch E. Heinricher, Nochmals über die Schlauchzellen der Fumariaceen. Ber. der Deutschen bot. Ges., IX., 1891, p. 184 ff.

Aber auch die von Nasse entdeckte Methode des Gerbstoffnachweises durch das Jod gewann in der pflanzlichen Mikrochemie wenig Anklang; völlig abweisend verhielt sich Hermann Moeller, welcher sagt: 1 »Die Reaktion ist meiner Ansicht nach wegen der lokalen Undeutlichkeit, der schnellen Veränderung und der leichten Verwechslung mit ähnlichen roten Farbenreaktionen für die mikrochemische Verwendung nicht geeignet.«

Die praktische Chemie hat die Jodreaktion weiter entwickelt und Methoden ersonnen, wonach Jodlösungen als Titrationsslüssigkeit zu quantitativen Gerbstoffbestimmungen verwendbar sind;² die mikrochemische Anwendung des Jods als Gerbstoffreagens ist hingegen in der Folgezeit fast völlig außer Gebrauch gekommen: in den neuesten Werken über die Mikrochemie der Pflanzen fand sie nicht mehr Berücksichtigung.³ Czapek, der sich ihrer unter anderem bei den Voruntersuchungen ⁴ zu seinen Studien über die kolloidalen Eigenschaften des lebenden Protoplasten bediente, weist in der Biochemie der Pflanzen auf sie hin.⁵ Diesem Hinweise verdanke ich meine erste Kenntnisnahme.

Was mich eigentlich veranlaßt hat, über die Verwendbarkeit des Jods als mikrochemisches Gerbstoffreagens Untersuchungen anzustellen, die schließlich zur Aufdeckung einer neuen und, wie ich glaube, in mancher Hinsicht recht brauchbaren und lehrreichen Methode führten, war der Wunsch, zu wissen, ob das Halogen als solches an der Bildung der

¹ Herm. Moeller, Anatomische Untersuchungen über das Vorkommen der Gerbsäure. Ber. der Deutschen bot. Ges., VI., 1888, p. LXX.

² Ferd. Jean, Jodjodkaliumlösung als Titrationsslüssigkeit für Gerbstoffe (Tannin und Gallussäure). Annales chim. anal. appl., V., p. 134 bis. 140. Ref. im Chem. Zentralblatt, 1900, I., p. 1107. — C. Böttinger, Jodzahlen von Gerbsäuren und Gerbextrakten. Chem. Zeitung, 21, p. 460.

³ H. Molisch, Mikrochemie der Pflanze. Jena (G. Fischer) 1913. — O. Tunmann, Pflanzenmikrochemie. Berlin (Gebr. Borntrager) 1913.

⁴ F. Czapek, Über Fällungsreaktionen in lebenden Pflanzenzellen und einige Anwendungen derselben. Ber. der Deutschen bot. Ges., XXVIII., 1910, p. 152.

⁵ Derselbe, Biochemie der Pflanzen. Jena (G. Fischer) 1905, II., p. 577. Die zweite Auflage dieses Bandes ist noch nicht erschienen.

in Form und Farbe mannigfaltigen Ballungen, die regelmäßig in gerbstoffhältigen Zellen bei Einführung von Organschnitten in Chlorzinkjod entstehen, beteiligt ist oder nicht. Zu diesem Zwecke wurde Jod, in verschiedener Lösung und auf verschiedene Weise angewandt, rücksichtlich seiner Wirkung auf die im Zellsaft gelösten Gerbstoffe geprüft und dabei das im folgenden mitgeteilte Verfahren als brauchbares Mittel zur Festhaltung und allgemeinen Erkennung der chemisch bekanntlich durchaus nicht gleichartigen Tannoide befunden. Einige dieser Versuche werden, soweit sie zur Begründung der Vorschrift oder zum Verständnisse der Reaktion beitragen, später besprochen.

1. Die Ausführung und das Bild der Reaktion.

In ein kleines, ungefähr 5 cm² fassendes Glasröhrchen (Stoffhälter) gibt man einen 1 bis 2 mm² messenden Jodsplitter und gießt 1 cm² Wasser darauf. Ob destilliertes Wasser oder Brunnenwasser, ist belanglos. Ohne durch Schütteln eine raschere Lösung des Jods erwirken zu wollen, werden die vorbereiteten, zunächst in Wasser liegenden, lebenden Organschnitte in das noch völlig farblose Jodwasser eingeführt, wobei zu beachten ist, daß die Schnitte völlig untertauchen. Die Häufung von Schnitten im Röhrchen verdirbt die Reaktion; im allgemeinen ist es ratsam, bei Vorhandensein mehrerer Schnittproben eine entsprechende Anzahl von Gläschen bereitzustellen. Je nach Schnittgröße empfiehlt es sich, zwei bis höchstens vier Schnitte in ein Röhrchen zu bringen. Die Schnitte müssen sorgfältig ausgeführt werden.

Je sauberer der Schnitt, um so schöner die Reaktion; allzu dicke Schnitte beeinträchtigen die Reaktion in ähnlicher Weise wie die Häufung von Schnitten im Röhrchen. Ist infolge von Luft, die in größeren Interzellularen oder im Geflecht der Trichome festgehalten wird, ein Untertauchen der zarten Schnitte unmöglich, so muß die Luft vorher wenigstens soweit entfernt werden, daß die Schnitte in dem Reagens schweben. Das kann, um das zeitraubende Behandeln mit der Luftpumpe

¹ Es ist dies die alte Sanio'sche Gerbstoffreaktion, von deren einstiger Anwendung ich begreiflicherweise zunächst nichts wissen konnte.

zu vermeiden, durch vorhergehendes kräftiges Schütteln in Wasser ohne Schädigung der Zellen bald erreicht werden.

Die Schnitte verbleiben in dem vor jeder Erschütterung möglichst bewahrten, mit einem Korke verschlossenen Gläschen durch 12 bis 24 Stunden. Diffuses Tageslicht oder gewöhnliches Lampenlicht sind ohne Einfluß. Das Verweilen der Schnitte in der Flüssigkeit über 24 Stunden führt früher oder später zur Lösung des Gewebeverbandes. Nach Ablauf der angegebenen Zeit, die für manche Objekte und zur Erzielung bestimmter Ergebnisse auf 4 bis 8 Stunden gekürzt werden kann, gelangen die Schnitte aus der nunmehr völlig oder wenigstens in den unteren Schichten deutlich gelben Flüssigkeit zur Differenzierung in Alkohol. Eine Wiederverwendung der Lösung ist ausgeschlossen; wohl aber kann das zurückgebliebene feste Jod nach gründlicher Spülung mit Wasser zu weiteren Reaktionen, jedoch jedesmal mit erneutem, reinem Wasser benutzt werden.

Alkohol entzieht den Schnitten das reichlich festgehaltene Jod in verschiedenem Maße. Am raschesten entfärben sich die zunächst leuchtend gelben, verholzten Membranen, es folgen das Plasma der gerbstoffreien Zellen, seine meist gut fixierten, geformten Bestandteile (Zelikern, Plastiden) und in weitem Abstande die ursprünglich tiefschwarze Stärke; eine Reihe durch Jod gefärbter Inhaltsstoffe, wie Öle und Harze, werden ganz oder teilweise gelöst; am hartnäckigsten halten unlösliche Fette, die braunen Borkenbestandteile. Kork und besonders die kutinisierten Wände das Jod fest. In derart. je nach der beliebig ausdehnbaren Alkoholbehandlung und je nach den stofflichen Verhältnissen bald mehr bald weniger bald völlig entfärbten Schnitten bleiben die Gerbstoffe, in färbige, unangreifbare und deutlich erkennbare Körper verwandelt, im Saftraum der Zellen liegen. Die beigefügte Tafel veranschaulicht die Reaktion. Für die Darstellung wurde ein Stadium der Alkoholdifferenzierung gewählt, in welchem neben den gelben oder braunen Abkömmlingen der Gerbstoffe auch noch die Stärkekörner in blauer Farbe erscheinen. Gerade diese Bilder, die sich sowohl bei Wasser- als auch bei Glyzerinpräparaten oft durch Tage nur wenig ändern,

sind, wie wir noch sehen werden, besonders lehrreich. Ist die Alkoholbehandlung mit Rücksicht auf Inhaltsstoffe, die man lieber entfernt haben möchte, bis zur völligen Entfärbung der Stärkekörner ausgedehnt worden, so läßt sich die Blaufärbung dadurch sehr bald wiederherstellen, daß dem Alkohol oder Wasser, in das die Schnitte übertragen wurden, einige Tropfen der üblichen Laboratoriumssalzsäure zugefügt werden. Dies Verfahren führt selbst bei Präparaten zum Ziele, die nach ein bis zwei Tagen völlig entfärbte Stärke aufweisen. Wir werden später auf dies Verhalten zurückkommen.

Wurden bei der Durchführung der Reaktion alle mitgeteilten Vorschriften getreulich befolgt, so gibt der Charakter der Färbung und Fällung ungefähr ein Maß für die Menge der im Zellsaft gelösten Stoffe - allerdings nur unter dieser Voraussetzung. Wir begegnen hier ähnlichen Verhältnissen wie bei der bekannten Reaktion mit Kalibichromat, für die seinerzeit Kutscher eine kolorimetrische Tabelle zusammengestellt hat.2 Eine hellgelbe Tönung des ganzen Zellsaftraumes, wie sie Zellen in der rechten Hälfte von Fig. 2 (aus dem Längsschnitt durch den jüngsten Sproßteil einer Echeveria sp.) aufweisen, deutet auf geringen Gehalt, eine dunklere Tönung, wie in der linken Zellreihe dieser Abbildung, auf etwas höheren Gehalt; bei stärkerer Konzentration bilden sich bald Myelinformen, bald größere, meist sehr regelmäßige Tropfen (Fig. 3, 4, 5, 7, aus Querschnitten durch Sprosse von Pelargouium malvaefolium), die nicht selten um den Zellkern, kleine Stärkekörner oder andere geformte Zellbestandteile gruppiert sind; bei stärkster Konzentration endlich erscheint die ganze Zelle tiefbraun und mit schönen, Stärkekörnern der Form nach oft täuschend ähnlichen, kugeligen Gebilden erfüllt (Fig. 1, aus dem Längsschnitt durch das Basalpolster des wintergrünen Blattes von Prunus Laurocerasus). Bei jeder Reaktionsform färbt sich der Plasmaschlauch in gleicher oder etwas dunklerer oder hellerer Tönung mit, was

¹ Das Verfahren entspricht ungefähr dem Nachweise von Jod, wie ihn Molisch bei Meeresalgen angewandt hat. Vgl. Mikrochemie der Pflanze, p. 78 bis 82.

² E. Kutscher, Über die Verwendung der Gerbsäure im Stoffwechsel der Pflanze. Flora 66., 1883, Taf. 1.

auf ein Eindringen der Gerbstoffe während des Reaktionsprozesses hinweist. Besonders klar wird hierdurch in gerbstoffhältigen, mit dickeren Membranen versehenen Zellen die Tüpfelung hervorgehoben und ich halte es nicht für unwahrscheinlich, daß nach einem entsprechenden Verquellungsverfahren für die Zellwand in dünnen Schnitten auch die Plasmodesmen sichtbar gemacht werden könnten.

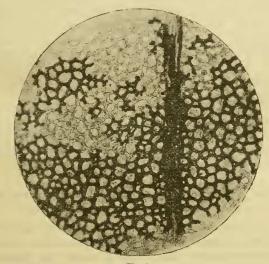


Fig. 1.

Aus dem Blattflächenschnitt von Viburnum fragrans. Gerbstoffhorizont des Schwammgewebes. Vergr. $541/_2$.

Die durch unsere Behandlung erzielten Gerbstoffabkömmlinge sind in jeder Form außerordentlich widerstandsfähig; die Schnitte vertragen daher jedes weitere Färbe- oder Einschlußverfahren. Nur in vereinzelten Fällen fand ich eine allmähliche, oft mehrere Wochen benötigende Auflösung der Fällung in Glyzerin, so beispielsweise bei *Pelargonium*.

Neben den Vorzügen, die aus dem Gesagten ohne weiteres hervorgehen, möchte ich noch auf die Sauberkeit der Reaktion hinweisen, die mit keinem der üblichen Mittel bei gleicher Auffälligkeit des Produktes in Form und Farbe erreicht wird. Vor allem ist jede Verunreinigung des Präparates, wie sie besonders bei Anwendung von Eisensalzen infolge des Eindringens gelöster Gerbstoffverbindungen in die Membranen und in ursprünglich gerbstoffreie Gewebeteile oft unvermeidlich ist, ausgeschlossen.¹ Und selbst die Behandlung mit Kalibichromat, dessen Fällungen die größte Ähnlichkeit mit den Joderzeugnissen haben, kann bekanntlich zu unrichtig lokalisierten Reaktionen führen, wenn beim Schneiden die aussließende Gerbstofflösung nach allen Seiten dringt, einem Übelstande, der allerdings durch Einlegen ganzer Organstücke in das Reagens vermieden wird. Von gewissen Nachteilen, die keiner Methode ganz erspart bleiben, soll später gesprochen werden.

Schließlich sei unter Hinweis auf das in Abbildung 1 des Textes gegebene Beispiel noch bemerkt, daß sich mit Jod in der angegebenen Weise behandelte gute Schnitte durch gerbstoffhaltige Organe ganz vorzüglich zu mikrophotographischer Darstellung von Gewebestrukturen eignen.

2. Über Versuche, die zur Methode geführt haben und gewisse Vorschriften und Vorteile erklären.

Die meisten Versuche wurden mit Schnitten durch die gerbstoffreichen jugendlichen Sprosse von Pelargonium malvaefolium durchgeführt, zum Vergleich wurde die gleichfalls sehr gerbstoffreiche Rinde ein- bis dreijähriger Sprosse von Pinus sylvestris herangezogen. Vor jedem Versuch prüfte ich das Material mit den üblichen Reagentien, vorzüglich mit Kalibichromat, auf seinen Gerbstoffgehalt.

Wie schon eingangs mitgeteilt, wollte ich erfahren, ob dem Jod als solchem irgendeine Beteiligung an den bekannten, mit der Chlorzinklösung des Halogens erzielbaren Ballungen in gerbstoffhaltigen Zellen zukommt. Die zunächs:

¹ Über die Verbesserungen der Eisensalzmethode unterrichtet Tunmann, Pflanzenmikrochemie, p. 252 bis 253 und Molisch, Mikrochemie der Pflanze, p. 155.

in mehrfacher Konzentration und in verschiedener Dauer angewandte Lösung von Jod in Alkohol brachte durchwegs negative Resultate. Alkohol löst eben bald rascher, bald allmählicher, bei gleichzeitiger Tötung des Plasmas die Gerbstoffe aus den Zellen heraus. Was man im besten Falle erreicht, ist eine ziemlich haltbare, mehr oder weniger auffällige Gelbtönung gerbstoffreicher Zellen, die jedoch zu dem tatsächlichen Gehalt an diesen Stoffen in keinem Verhältnisse steht. Dem Ziele näher brachten mich Lösungen von Jod in Kaliumjodid,1 die bei fortschreitender Verdünnung - ich ging von der für die Gram'sche Bakterienfärbemethode üblichen Lösung² aus - und länger andauernder Einwirkung immer deutlichere gelbe bis gelbbraune Fällungen in den betreffenden Zellen zurückließ. Da aber Alkalien, vorzüglich an Kohlensäure gebunden, schon lange als gerbstoffällende Körper bekannt sind3 und mich zudem die durch die Jodjodkaliumlösungen erzielten Reaktionen im Vergleich zur Fällung mit Eisensalzen oder mit Kalibichromat keineswegs befriedigen konnten, versuchte ich es mit einer Lösung des Halogens in destilliertem Wasser. Nun ist, wie bekannt, Jod in reinem Wasser schwer löslich, zudem die Lösung nicht haltbar, da sich besonders unter dem Einfluß des Lichtes sehr bald Jodwasserstoff bildet, der seinerseits auch von kurzer Beständigkeit ist und freies flüchtiges Jod abgibt. Um dem abzuhelfen, stellte ich möglichst konzentrierte wässerige Lösungen her, die sich jedoch auch im Dunkeln in verschlossenen Gläsern kaum über 24 Stunden in gleicher Farbe hielten.

In solche Lösungen eingeführte Schnitte blieben entweder (bei rascher Veränderung der Lösung) tagelang völlig unbeeinflußt oder zeigten in bald größerer bald kleinerer Anzahl abgetötete Zellen, niemals aber auch nur eine Andeutung einer Gerbstoffreaktion. Bei der nachträglichen Prüfung mit

¹ Die in Behrens' Tabellen angeführte Reaktion (siehe p. 2, Anmerkung 3).

 $^{^{2}}$ J: KJ: $H_{2}O = 1:2:300$.

³ J. af Klerker, Studien über die Gerbstoffvakuolen. Tübinger Inauguraldissertation, 1888.

Kalibichromat stellte sich heraus, daß die toten Zellen ihren Gerbstoffinhalt verloren hatten, die lebenden völlig unverändert geblieben waren; die aus den toten Gewebeteilen ausgeflossenen Gerbstoffe konnten in der Flüssigkeit jedesmal in üblicher Weise leicht nachgewiesen werden.

In der Absicht, Jod möglichst lange in wässeriger Lösung wirken zu lassen, wurde die Lösung mit überschüssigem festem Jod versetzt, Mit dieser Flüssigkeit durch 4 bis 12 Stunden und länger behandelte Schnitte zeigten eine allgemeine starke Jodspeicherung; in einzelnen Zellen der äußersten Rinde war hin und wieder eine allerdings befriedigende Fällung und Färbung des Gerbstoffinhaltes erzielt, größtenteils blieb aber nach Differenzierung in Alkohol nur der eingefallene Plasmaschlauch in gelber oder brauner Farbe und eine allgemeine gelbbraune Tönung der Zelle sichtbar. Gleichzeitig konnte ich nach einiger Zeit bemerken, daß sich auf dem Boden des Gefäßes ein Krümmelwerk von brauner Farbe abgesetzt hatte - zweifellos durch Jodeinwirkung erzielte Gerbstofffällungen.1 War hiermit die Möglichkeit, durch Jod allein Gerbstoffällungen sowohl innerhalb als auch außerhalb der Zelle zu erzielen, erkannt, so stand doch auch fest, daß hierzu eine längere Zeit vonnöten ist, während welcher das Plasma nicht in einem Zustand erhalten bleibt, der eine Exosmose des Gerbstoffinhaltes verhindert.2 Diese Erkenntnis führte mich auf Versuche mit reinem Wasser, in welches aus einem kleinen Splitter möglichst langsam und allmählich, aber andauernd, Jod diffundieren sollte. Und diese Versuche führten zum bekannten Ziele.

Wie aus eben geschilderten Versuchen mit Jodwasser hervorgeht, wird das lebende Plasma bis zu einem gewissen Grade der Konzentration vom Halogen nicht gestört und es gilt zu sorgen, daß die Jodlösung so lange diesen Grad nicht

¹ An denen allerdings aus den toten pflanzlichen Geweben stammende Stoffe (Alkalisalze) mitbeteiligt sein könnten.

² Vgl. Czapek, Versuche über Exosmose aus Pflanzenzellen, Ber. der Deutsch, bot. Ges., XXVIII, 1910, p. 160.

überschreite, bis das in den Zellsaftraum eindringende Jod¹ die Fällung der Gerbstoffe völlig oder größtenteils bewirkt hat. Dies wird durch die andauernde, möglichst ungestörte Diffusion erreicht, bei der wenigstens zunächst wegen der gleichzeitig sich abspielenden Prozesse der Jodwasserstoffbildung und Jodverflüchtigung schädliche Konzentrationssteigerungen ausgeschlossen sind. Die Sachlage ändert sich sofort, wenn durch Schütteln oder Rühren oder durch andere gleichzeitig in Lösung übergehende Stoffe die Lösungsgeschwindigkeit für das Halogen gehoben wird.

Nach meinen Erfahrungen — in der Literatur fand ich keine entsprechende Bemerkung — heben Gerbstoffe selbst das Lösungsvermögen des Wassers für Jod beträchtlich. Es genügt daher an Schnitten haftender oder aus irgendwie getöteten Zellen aussließender oders exosmierender Gerbstoff vollkommen, um den schönen Verlauf der Reaktion innerhalb noch unverletzter Zellen des Schnittes zu beeinträchtigen oder größtenteils zu verhindern. Die im vorhergehenden Abschnitt mitgeteilten Vorsichtsmaßregeln werden nach dem Gesagten durchaus verständlich, ebenso die sichere und ausschließliche Beschränkung der gelungenen Reaktion auf die lebenden gerbstofführenden Elemente des Schnittes.

Wie schon einmal bemerkt, finden wir nach der Alkoholdifferenzierung auch den Plasmaschlauch selbst in entsprechender Weise bald mehr bald weniger gefärbt, was darauf hinweist, daß Gerbstoffe im Verlauf des Prozesses in das Plasma eindringen. Es hält somit der ursprünglich notwendige unbeeinflußte Zustand des Plasmas nicht bis zum Schlusse an, vielmehr wirkt die zunehmende Jodspeicherung der Gewebe-

¹ Es herrschen hier offenbar bezüglich der Giftwirkung ähnliche Verhältnisse wie bei der von Pfeffer studierten Aufnahme giftiger Farbstoffe in die lebende Zelle (Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Untersuchungen aus dem bot. Institut zu Tübigen, II., 1886 bis 1888, p. 327). Daß Jod als Ion in kleinsten Mengen das Plasma, ohne es zu schädigen, durchdringen kann, ist mit Rücksicht auf Aussagen über das Vorkommen freien Jods in Meerosalgen von einiger Bedeutung (vgl. die Äußerungen Molisch's zu den Mitteilungen von Golenkin und Robertson in Mikrochemie der Pflanze, p. 82).

bestandteile schließlich auf die lebende Struktur schädigend ein, so daß die Gerbstoffe oder deren Abkömmlinge in den Plasmaschlauch eindringen und hier in der durch Jod veränderten Form liegen bleiben. Daß dies nicht stets in gleichem Maße erfolgt, vielfach auch ganz ausbleibt, mag von der Empfindlichkeit des betreffenden Plasmas und wohl auch davon abhängen, ob die zur Bildung fester Produkte führenden Prozesse rascher oder allmählicher verlaufen. In diesem Zusammenhange sei erwähnt, daß vereinzelt und manchmal Gerbstoffspuren, erst in der umgebenden Membran der betreffenden Zelle festgehalten, angetroffen wurden.

Nachdem das Ziel, eine unveränderliche und gut charakterisierte Fällung und Färbung der Gerbstoffe durch Einwirkung von Jod auf die lebende Zelle, erreicht worden war, mußte es erwünscht sein, die einzelnen Phasen kennen zu lernen, welche die Reaktion allmählich bis zum bekannten Endergebnisse durchläuft. Zu dieser Kenntnis hoffte ich mit Hilfe der Dauerbeobachtung entsprechend hergestellter Präparate zu gelangen. Es stellte sich jedoch bald heraus, daß im kleinen, gegen Verdunstung durch Paraffin- oder Vaselinverschluß geschützten Flüssigkeitsraume keineswegs jenes Diffusionsgefälle herstellbar ist, das im weiteren Glasröhrchen zu den zweckmäßigen Konzentrationsverhältnissen führt. Alle Präparate, mochten sie mit gewöhnlichen oder hohlgeschliffenen Objektträgern hergestellt sein, krankten daran, daß die Jodteilchen aus dem miteingeschlossenen Splitter viel zu langsam in entfernteren Teilen des Schnittes eintrafen. So kam es gewöhnlich nur in wenigen, dem Splitter zunächst liegenden Zellen zu verfolgbaren Veränderungen, während zu den weiter gelegenen Zellen Jod erst nach Tagen, ja oft mehr als einer Woche gelangte, einer Zeit, die, wie Parallelversuche in reinem Wasser unter sonst gleichen Verhältnissen zeigten, die lebende Struktur nicht unbeeinflußt läßt. Es genügen nun aber, wie schon bemerkt, aus gestörten Zellen exosmierende Gerbstoffe vollkommen, um das Lösungsvermögen für Jod derart zu steigern, daß die Plasmakörper aller Zellen getötet und damit ein allgemeiner Austritt der Gerbstoffe bewirkt wird.

Zur besseren Einsicht in die Entwicklungsstadien der Reaktion gelangte ich dadurch, daß ich Schnitte aus den beschriebenen Jodgläschen nach bestimmten Zeitabschnitten entnahm und unter dem Mikroskop untersuchte. Fig. 4 der Tafel soll uns die Phasen der Reaktion veranschaulichen, wobei ich gleich feststellen möchte, daß eine solche Häufung der Reaktionsphasen auf kleinstem Raum, wie sie hier aus Sparsamkeitsrücksichten ratsam erschien, in Wirklichkeit niemals vorkommt. Vielmehr haben wir uns - die Grundlage der Zeichnung bildete peripheres Rindengewebe eines jungen Sprosses von Pelargonium im Querschnitt - die dargestellten Stadien über den ganzen Sproßquerschnitt derart verteilt zu denken, daß zu diesem Zeitpunkt, etwa 4 Stunden nach Versuchsbeginn in diffusem Tageslicht und bei Zimmertemperatur, die vollendete oder nahezu vollendete Reaktion in den zunächst dem Splitter liegenden peripheren Zellen, die Anfangsstadien aber in den diametral gegenüberliegenden Rindenzellen gleichzeitig sichtbar sein können. Damit ist auch ungefähr ein Maß für die Reaktionszeit und bei aufrecht stehenden Schnitten für die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Halogens in der Flüssigkeitssäule gegeben. In den zunächst dem Splitter liegenden Zellen ist die Reaktion für die gegebenen Verhältnisse durchschnittlich in 31/2 bis 4 Stunden vollendet; da sie aber erst nach Ablauf von 12 Stunden allgemein wird, so ergibt sich, daß die vom Jodsplitter entferntesten Zellen zur Erreichung der Endreaktion einer ungefähr doppelt so langen Zeit als die zunächstliegenden bedürfen. Dies ist auch mit Rücksicht auf die Speicherung, die das Halogen auf seiner Wanderung in immer stärkerem Maße erfährt, ganz begreiflich.1 In der Pinus-Rinde verläuft die Reaktion rascher.

Die eben herangezogene Figur zeigt, wie der durch seine stärkere Lichtbrechung leicht kenntliche gerbstoffführende Zellsaftraum zunächst eine graublaue Tönung erhält. Es hängt dies jedenfalls mit der Bildung kleinster Teilchen

¹ Daher keine Häufung von Schnitten in einem Röhrchen und eine möglichst günstige Lage des Schnittes in bezug auf den Jodsplitter!

zusammen, die bei Dunkelfeldbeleuchtung gewiß sichtbar gemacht werden könnten.1 Sehr bald darauf erscheint der Zellsaftraum in hellgelber Tönung. Sie entspricht vollkommen der Färbung, die leicht oxydable Gerbstoffe wohl unter Mitwirkung von Oxydasen in vielen Fällen schon beim Schneiden annehmen. Daß die geschilderten Veränderungen hier unter dem Einfluß des einwandernden Jods erfolgen, wird durch die Bläuung der Stärkekörner in benachbarten Zellen angezeigt. Der gelbe Saftraum nimmt in der Folge immer sattere Töne an, gleichzeitig beginnen sich da und dort geformte und meist dunkler gefärbte Tropfen festerer Konsistenz auszuscheiden. Die Bildung des Hydrogels aus dem Sol wird deutlich erkennbar. Hierbei ist, wie der unverrückte Plasmaschlauch beweist, eine Fällung durch Wasserentzug ausgeschlossen.2 Schließlich erscheint unter Lichtung des Zellraumes der ganze Gerbstoffinhalt in Gestalt unangreifbarer Tropfen von gelber, rotbrauner oder tiefbrauner Farbe. Die Bildung eines wasserlöslichen roten Körpers, wie er für die Nasse'sche Jodpyrogallolreaktion charakteristisch ist, konnte im Verlauf des Prozesses niemals festgestellt werden. Wohl aber gelingt es, die geformten unlöslichen Gebilde auf kurze Zeit in schöner, leuchtend roter Farbe darzustellen. Den Farbenton gibt Fig. 5 der Tafel für dasselbe Objekt wieder. Man erhält diesen Ton, wenn man die Schnitte vor Ablauf der Zeit, die für das betreffende Organ zur Vollendung der Reaktion erprobt wurde - bei Pelargonium-Sproßschnitten etwa nach 8 bis 10 Stunden - aus dem Reagens ohne vorherige Untersuchung in Wasser sogleich in Alkohol überträgt. Hier wird die Rötung der Schnitte nach kurzer Zeit schon mit freiem Auge sichtbar und hält sich ziemlich lange. Sobald die Schnitte jedoch mit Wasser in Berührung kommen,

¹ Vgl. Czapek's Schilderung vom ahmählichen Übergang der intravitalen Gerbstoffällungen mittels Coffein je nach der Zellsaftkonzentration von grob tröpfchenartigen Fällungen bis zu mikroskopisch unauflösbaren Ausscheidungen in: Ausblicke auf biologische Adsorptionserscheinungen, Jahrb. für wiss. Bot., 56. 1915 — Pfeffer-Festschrift —, p. 99.

² Wie eine solche bei Plasmolyse gerbstoffhaltiger Zellen häufig zu beobachten ist.

setzt die Veränderung des Rot ein, das je nach dem Objekt bald rascher, bald ganz allmählich über Bronzetöne in mattes dunkles Braun übergeht. Als ein Objekt, dessen Gerbstoffabkömmlinge fast über einen Tag die leuchtend rote Farbe bewahrt, lernte ich das im Jänner geprüfte Mark des einjährigen Sprosses von Ceratonia Siliqua kennen. Nicht selten sind die roten Töne nur in bestimmten Bezirken eines Schnittes zu sehen und es stellt sich heraus, daß in solchen Fällen die mit höherem Gerbstoffgehalt ausgestatteten Zellen rote-Fällungen, die schwächer gerbstoffhaltigen schon die braunen Fällungen aufweisen oder aber bei annähernd gleichmäßigem Inhalt die der Jodquelle zunächstliegenden Zellen schon braune, die weiterliegenden noch rote Niederschläge enthalten. Dies weist alles darauf hin, daß der rote Körper ein Zwischenprodukt ist, das im Reagens selbst oder in Wasser wegen seiner raschen weiteren Veränderung nur selten zur Beobachtung gelangt, das vielmehr als Inhalt der Zellen nur in Alkohol und wahrscheinlich in jeder luftfreien und Jod gegenüber chemisch indifferenten Flüssigkeit festzuhalten ist.

Mit Rücksicht auf die Vorschrift, zur Reaktion nur gute, nicht allzu dicke Schnitte zu verwenden und keinesfalls eine größere Anzahl von Schnitten in einem Gläschen zu vereinigen, ist schließlich ein kurzer Hinweis auf den Ablauf der Reaktion in größeren Organstücken nicht unangebracht. Es stellt sich nämlich hierbei heraus, daß durch die Jodeinwirkung auf die im Zellsaft gelösten Gerbstoffe die Möglichkeit zur Bildung eines in Wasser unlöslichen, in Alkohol aber ungemein löslichen braunen Körpers gegeben ist, und zwar dann, wenn die Fällung erst nach derartig heftiger Störung der lebenden Struktur des Plasmas erfolgt, daß die Gerbstoffe größtenteils exosmieren, sich jedoch noch innerhalb der Zellräume befinden.

Zerteilt man ein etwa 3 mm langes Stück des gerbstoffreichen Sproßgipfels von Pelargonium, das durch 24 Stunden oder länger im Jodwasser gelegen, in Längs- und Querschnitte, so sind von außen nach innen alle Grade des Reaktionserfolges anzutreffen: in den peripheren Teilen die unbeeinträchtigten Zellen mit den dauerhaften bekannten braunen Gebilden, in der Mitte vollständig oder nahezu entleerte Zellen mit kollabiertem Plasmaschlauch, dazwischen Zellen mit den eben geschilderten Fällungen, die meist zwischen dem gut fixierten Plasmaschlauch und der Zellwand liegen geblieben. Fig. 6 der Tafel gibt in der oberen Hälfte (A) ein Bild hiervon. Die untere Hälfte der Abbildung (B) zeigt, wie sich bei Übertragung in Alkohol die braunen Körper lösen und wie hierbei der gut zusammenhaltende und zunächst für Alkohol offenbar wenig durchlässige, von eingelagerten haltbaren Gerbstoffällungen gebräunte Plasmaschlauch gegen das Zellinnere in verschiedenster Weise eingefaltet wird.

An diesem Beispiele mag nochmals ersehen werden, wie notwendig zur Erzielungen der unveränderlichen schönen Fällungen innerhalb unverletzter Zellen eine Reaktion ist, die vor der Zerstörung der lebenden Struktur des Plasmas und der damit einsetzenden Exosmose der Gerbstoffe vollständig oder nahezu abgelaufen ist. Gleichzeitig wird verständlich, daß nur bei Einhaltung der Vorschrift aus Farbe und Form des Reaktionsproduktes ein ungefährer Schluß auf den Gerbstoffgehalt der Zellen eines Gewebes oder eines Organes erlaubt ist.

3. Zur Chemie der Reaktion.

Zu einem abschließenden Urteil über den stofflichen Vorgang und über die chemische Beschaffenheit des Endproduktes konnte ich nicht gelangen, schon deshalb nicht, weil, abgesehen davon, daß sich die Reaktion wenigstens anfänglich intravital abspielt, auch in der chemischen Literatur über die Einwirkung des Jods auf Gerbstoffe nicht viel zu finden ist und die Chemie der Gerbstoffabkömmlinge mehr denn die Chemie der Gerbstoffe selbst noch der endgültigen Erledigung harrt. Auch die Nasse'sche Jodprobe, auf die schon mehrmals hingewiesen wurde, scheint, soweit ich in die betreffende Literatur Einsicht zu nehmen Gelegenheit fand, nicht näher erklärt worden zu sein. Nasse selbst hält

die Entstehung der roten Farbe in Tanninlösung bei Zusatz von Jod und Anwesenheit bestimmter Salze für eine Oxydation,1 während Ferd. Jean bei Angabe seines Jodtitrationsverfahrens von einer johannisbeerroten Jodverbindung? spricht. In Beilstein's Handbuch werden wohl einige Bromgerbstoffe,3 nicht aber irgendwelche Jodtannine angeführt. Bei der bekannten Leichtigkeit, mit welcher sich Jod, besonders bei Anwesenheit von Alkalien, in Phenole eingliedern läßt und mit welcher Halogenphenole allgemein aus entsprechenden-Phenolcarbonsäuren hergestellt werden können, ist selbstverständlich auch bei deren höheren Abkömmlingen Jodbindung als H-Substitution denkbar. Andrerseits darf die große Ähnlichkeit der mittels Jod erzielten Gerbstoffderivate mit den durch Kalibichromat oder Chromsäure bewirkten Fällungen nicht außeracht gelassen werden. Bei diesen handelt es sich zweifellos um Oxyde der Gerbstoffe, freilich wohl kaum um das von Herm. Moeller 4 vermutete Purpurogallin selbst, das sein Entdecker Aimé Girard⁵ als roten, gut krystallisierenden, in Alkohol, Äther, Benzol löslichen Körper beschrieben hat, vielmehr wahrscheinlicher um dessen unkrystallisierte, braune höhere Oxydationsprodukte.6

Die durch das Bichromat erzielbaren Gerbstoffällungen habe ich bezüglich ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen Reagentien mit den Jodderivaten verglichen und gefunden, daß das Verhalten nur in einzelnen Fällen nicht übereinstimmt: sie sind übereinstimmend unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Aceton und Benzolen, unveränderlich in Ammoniak und Essigsäure, leicht löslich in Alkali und Salpetersäure, in konzentrierter Schwefelsäure hält sich das Chromatprodukt scheinbar unbegrenzt, das Jodprodukt wird in etwa 3 bis

¹ Eine neue Pyrogallolreaktion; a. a. O.

² Jodjodkaliumlösung als Titrationsflüssigkeit für Gerbstoffe; a. a. O-

³ Beilstein, Handbuch, 3. Aufl., III., p. 684, 686 und Ergänzungsband, p. 496 bis 498.

⁴ Herm. Moeller, Anatomische Untersuchungen über das Vorkommen der Gerbsäure; a. a. O., p. LXX.

⁵ Berichte der Deutschen chemisch. Gesellsch., II., 1869, p. 562.

⁶ Von denen schon Girard a. a. O. spricht.

4 Wochen zu Kohle. Verschieden ist das Verhalten gegenüber der Salzsäure, der konzentrierten Chromsäure und der zerstörenden Einwirkung von Javelle'scher Lauge: in Salzsäure ist die Chromatfällung leicht löslich, die Jodfällung verändert nur ihre Farbe, bleibt aber erhalten; in Chromsäure hält sich die Chromatfällung unbegrenzt, die Jodfällung ist allmählich löslich; Javelle'sche Lauge zerstört die Jodfällung in einer Stunde, greift hingegen die Chromatfällung selbst nach 24stündiger Einwirkung nur wenig an.

Rücksichtlich der Hartnäckigkeit gegenüber Lösungsmitteln, der leichten Angreifbarkeit durch Alkalien und auch rücksichtlich des verschiedenen Verhaltens der beiden Fällungen gegenüber bestimmten Eingriffen sind beide Körper auch mit den Phlobaphenen und Roten vergleichbar, jenen Rindenstoffen, die durch Hlasiwetz und Grabowski1 seinerzeit im Innsbrucker chemischen Laboratorium viel Berücksichtigung gefunden haben. Durch die genannten Forscher und weiters durch Oser und besonders durch Böttinger2 sind Beziehungen dieser mannigfaltigen, gefärbten, kohlenstoffreichen Körper, welche die ersten Bearbeiter von Rindenextrakten, Stähelin und Hofstetter durch Aufstellung von zwei Individuen, einem wasserhältigen und einem wasserfreien »Phlobaphen«, erschöpft zu haben glaubten,3 untereinander und zu den Rindengerbstoffen festgestellt worden. Hlasiwetz hat unter anderem auf die Zusammengehörigkeit des Kastaniengerbstoffes, des Kastanienrotes und des Oxydationsproduktes mit Chromsäure hingewiesen, deren empirische Formeln deutlich zunehmende Oxydationsstufen zeigen.4

Ich habe mich bemüht, sowohl die natürlichen, in der Borke liegenden Phlobaphene, wie sie mir in besonders reichlicher Menge ein ödematisches Jugendexemplar von

¹ Hlasiwetz, Über die Beziehungen der Gerbsäuren, Glukoside, Phlobaphene und Harze. Liebig's Annalen, 143., 1867, p. 290 ff.; Grabowski, Über die Gerbsäure der Eichenrinde. Liebig's Annalen, 145, 1868, p. 1 ff.

² C. Böttinger, Über Phlobaphen, Eichenrot und Lohgerberei. Liebig's Annalen, 202., 1880, p. 269 ff.

³ Stähelin und Hofstetter, Chemische Untersuchungen einiger Rinden, Liebig's Annalen, 51., 1844, p. 63 ff.

⁴ Hlasiwetz, a. a. O., p. 310.

Pinns longifolia bot,¹ als auch aus Rindenextrakten und käuflichem Tannin nach Angaben der genannten Forscher hergestellte amorphe Körper unter dem Mikroskop und im Probierröhrchen in ihrer Beeinflussung durch verschiedene Agentien zu untersuchen und kann, ohne auf Einzelheiten einzugehen, feststellen, daß kein Analogon zu dem oben mitgeteilten Verhalten der mit Jod erzielten Fällungen vermißt wurde. Selbst die für das Derivat des Pelargonium-Gerbstoffes schon einmal mitgeteilte allmähliche Löslichkeit in Glyzerin hat unter den Phlobaphenen ein Analogon: Böttinger fand das Eichenrindenphlobaphen in heißem, konzentriertem Glyzerin reichlich löslich.²

Nach diesem allem, ferner nach der wohl zweifellos auf Oxydation beruhenden Bräunung des im früheren Abschnitte beschriebenen roten Zwischenproduktes bei Berührung mit lufthältigem Wasser und nachdem ausnahmslos festgestellt werden konnte, daß die Bildung der intrazellularen Fällung durch Jod überall dort rascher verläuft, wo ausfließende und mit Luft in Berührung kommende Gerbstoffe durch baldige Verfärbung ihre leichte Oxydierbarkeit offenbaren (z. B. bei Pinus, Prunus Laurocerasus, Arbutus- und Viburnum-Arten), kann wohl mit einiger Sicherheit angenommen werden, daß an der Bildung unserer Gerbstoffderivate Oxydationsvorgänge beteiligt sind. Hierzu könnte das Jod insofern Veranlassung sein, als es auf Grund seiner bekannt leichten Einwirkung auf Wasser Sauerstoff befreit und damit die Möglichkeit schafft, daß die in der lebenden Zelle unterbrochene Oxydation weiter fortgesetzt werde,3 oder aber durch direkte Einwirkung auf Hydroxylgruppen oder Wasserstoffatome des gelösten Körpers die Bildung relativ sauerstoffreicherer Derivate veranlaßt. Vielleicht laufen beide Prozesse Hand in Hand.

¹ Sperlich, Mit starkem Langtriebausschlag vorbundenes Ödem am Hauptstamm jugendlicher Topfpflanzen von *Pinus longifolia* Roxb. und canariensis Ch. Smith und seine Heilung durch vorzeitige Borkenbildung. Ber. der Deutsch. bot. Ges., XXXIII., 1915, p. 416 ff.

² C. Böttinger, a. a. O., p. 274.

³ Vgl. H. Euler, Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie und III. Teil, Braunschweig 1909, p. 223.

Dabei ist aber noch zu beachten, daß, wie erinnerlich, die intrazellular, bei zunächst ungestörter lebendiger Struktur verlaufenden Prozesse zu dauerhafteren, mithin nach bekannten Erfahrungen an Phlobaphenen höher oxydierten Körpern führen als die nach einer mehr oder weniger weitgehenden Veränderung am Plasma außerhalb desselben verlaufenden Vorgänge.¹ Dies deutet darauf hin, daß in der lebenden Zelle Faktoren vorhanden sein müssen, welche die Oxydation begünstigen und es ist naheliegend, an die Mitwirkung der allgemein verbreiteten Oxydasen zu denken.²

Andrerseits wird aber auch, wie leicht nachzuweisen ist, bei der Bildung der Fällung Jod reichlich im Zellsaftraum festgehalten und selbst nach längerer, über 24 Stunden ausgedehnter Alkoholbehandlung nicht abgegeben. Werden Schnitte mit braun gefällten Gerbstoffen, nach vollständiger Entfärbung der übrigen Bestandteile durch Alkohol, so lange im Exsikkator konzentrierter Schwefelsäure ausgesetzt, bis nichts mehr übrig bleibt als die vollkommen resistente Kutikula, so erscheinen im Bereiche des Schnittes herrliche Jodkryställchen, in Drusen und Gruppen den ursprünglich gerbstoffhaltigen Zellen entsprechend verteilt. Hierbei dürfte es sich um Jodmengen handeln, die von den braunen Körpern adsorbiert wurden; ähnlich speichern auch die natürlichen braunen Borkenbestandteile das Jod sehr reichlich und halten es mit großer Hartnäckigkeit fest. Ein weiteres Verhalten, von dem schon einmal die Rede ging, läßt es zudem nicht ausgeschlossen erscheinen, daß möglicherweise auch Jodverbindungen mit im Spiele sind: Werden Schnitte, die man bis auf die braunen Gerbstoffällungen in Alkohol vollständig entfärbt hat, mit Spuren von Salzsäure in Berührung gebracht

¹ Vgl. das im vorhergehenden Abschnitt auf p. 16 Gesagte und Fig. 6 der Tafel.

² Daß Enzyme durch Jod in gewissen Grenzen nicht unwirksam werden, geht aus Untersuchungen hervor, die A. Bach über die Bildung eines jodhältigen Purpurogallins bei der Oxydation des Pyrogallols unter Aktivierung von Hydroperoxyd durch freies Jod durchgeführt hat. Über das Verhalten der Peroxydase gegen Jod. Ber. der Deutschen chem. Ges., 40., 1907, p. 230.

oder auch nur für einige Zeit Salzsäuredämpfen ausgesetzt, so deutet die oft weitgehende Bläuung der Stärkekörner auf die Neubildung von freiem Jod, das nur aus den braunen Körpern stammen kann.¹

Bei älteren Präparaten gelangen die beschriebenen Jodnachweise nicht mehr. Es sei jedoch daran erinnert, daß sich gewisse Bromide von Phlobaphenen, die seinerzeit Böttinger dargestellt hat, ähnlich erweisen, indem sie nicht haltbar sind und zunächst ziemlich rasch, dann langsamer das Brom, nach dem Autor allerdings mit Sicherheit als Bromwasserstoff, abgeben.²

Um weitere Anhaltspunkte für den Charakter der Jodgerbstoffreaktion in der lebenden Zelle zu gewinnen, wurde schließlich die Bildung von Niederschlägen aus wässerigen Gerbstofflösungen bei Zusatz von Jod in vitro beobachtet. Da es sich bloß um orientierende Versuche handelte, arbeitete ich mit rohen Extrakten und mit käuflichem Tannin. Es konnte zunächst festgestellt werden, daß die Reaktion keinesfalls der in der Zelle beobachteten völlig entspricht. Im allgemeinen bildeten sich gelbbraune, wasserunlösliche amorphe Körper im Reagenzglas viel später als in der Zelle3 und nur dann noch am gleichen Tage, wenn rohe Gerbstoffextrakte oder Lösungen von Tannin in Brunnenwasser verwendet wurden. Bei Anwendung von destilliertem Wasser bedurfte es bei Tannin trotz seiner bekannten Unreinheit stets mehrerer Tage, bis auf dem Boden des Gefäßes ein schwaches gelbliches Sediment bemerkbar wurde. Das zeigt, daß zur Bildung der unlöslichen Körper, genau so wie für die Rotfärbung bei

¹ Stärke als Indikator für den mikrochemischen Nachweis von Jod in pflanzlichen Geweben (Laminaria) nach Behandlung der Schnitte mit Salzsäure wurde von Molisch angewendet. Vgl. Mikrochemie der Pflanze, p. 79 und 82.

² C. Böttinger, Über Rindengerbsäuren. Ber. der Deutchen chem. Ges., 17., 1884, p. 1129.

³ Allerdings wären zur richtigen Einschätzung der in vitro reichlich verzögerten Niederschlagsbildung völlig gleich wertige Konzentrationsverhältnisse notwendig. Auf die Tatsache, daß die braunen Niederschläge im Glase anders geformt sind als in der Zelle, gehe ich nicht weiter ein.

der Nasse'schen Jodpyrogallolreaktion die gleichzeitige Anwesenheit gewisser in Wasser gelöster Salze notwendig ist. Obwohl nun, wie erinnerlich, die Gerbstoffjodreaktion in der lebenden Zelle auch bei Anwendung destillierten Wassers vollkommen gleich abläuft wie mit Brunnenwasser, so bleibt dennoch die Möglichkeit bestehen, daß im Zellsafte neben den Gerbstoffen bereits vorhandene oder bei der Alteration des Plasmas aus diesem in den Zellsaftraum austretende Stoffe intrazellular den beschleunigten Verlauf der Reaktion veranlassen.

Diese Bedenken vollkommen zu entkräften, bin ich allerdings nicht in der Lage; doch halte ich beides für wenig wahrscheinlich. Fürs erste bietet die Nasse'sche Reaktion selbst, die ja auch mikroskopisch verwendbar ist und verwendet wurde,1 die Möglichkeit, in gerbstoffhaltigen Zellen vorhandene Elektrolyte zu erkennen; nun erscheint aber, wie schon aus den Angaben früherer Forscher hervorgeht, die Nasse'sche Rotfärbung in solchen Zellen nicht immer und stets erst dann, wenn mit oder nach der Jodlösung die Lösung eines Alkalisalzes dem Präparat zugefügt wird. Fürs zweite sei daran erinnert, daß die Gerbstoffreaktion nur bei zunächst völlig ungestörtem Plasmakörper in gewünschter Weise abläuft und die Vorgänge schon bei Jodmengen einsetzen, welche die als Indikatoren dienlichen Stärkekörner von Nachbarzellen eben merklich bläuen (vgl. Fig. 4 der Tafel). Nach dem Vorgebrachten darf die Beteiligung oxydierender Enzyme an der Reaktion in der lebenden Zelle als das Wahrscheinlichste gelten und diese Beteiligung als Ursache für den rascheren Ablauf des Prozesses angesprochen werden.

Bemerkenswert ist die wesentlich verschiedene Beschaffenheit des erst nach Tagen erscheinenden Niederschlages aus Lösung von Rohtannin in destilliertem Wasser bei Zusatz von Jod. Diese Lösung nimmt, wie schon

¹ Vgl. die in der Einleitung angegebene Literatur. Nasse selbst empfiehlt seine Reaktion zum Nachweis von Salzen in Wasser. Es ist jedoch zu bedenken, daß eine schwache, im Reagenzglas noch erkennbare Rötung in der dünnen Flüssigkeitsschichte des Präparates oder der Zelle kaum hervortreten dürfte.

im früheren Abschnitt mitgeteilt wurde, sehr bedeutende Mengen des Halogens auf. Nach etwa 3 bis 4 Tagen beginnt unter gleichzeitiger Lichtung der ursprünglich tiefbraunen Lösung die Bildung eines äußerst feinkörnigen und hellbraunen, eigentlich mehr gelben Sediments. Die Menge des Absatzes nimmt alltäglich so lange zu, bis die Flüssigkeit eine ganz lichtgelbe Farbe erhalten hat. Sie gibt sowohl mlt Eisensalzen als auch mit Kalibichromat noch Fällungen.

Der durch Jod bewirkte Niederschlag wurde auf sein Verhalten gegen Reagentien geprüft und bis auf die leichte Löslichkeit in Alkali vollständig unangreifbar befunden. In dieser Beziehung stimmt er demnach mit den braunen Körpern in der Zelle überein; unter dem Mikroskop verhält er sich jedoch wesentlich anders: er erscheint bei durchfallendem Lichte vollkommen farblos und ist krystallisiert. Bei gekreuzten Nikols leuchten selbst die kleinsten Körnchen hell auf. Fig. 2 A gibt von der Gestalt des Nieder-





Fig. 2. (Erklärung im Texte, Vergr. 541/4).

schlages ein Bild. Durch Einwirkung von Aceton wurde die im auffallenden Lichte bemerkbare gelbbraune Farbe aufgeklärt: es stellte sich heraus, daß im Aceton nach Lösung der Krystalle braune, amorphe, im Lösungsmittel haltbare Häute übrig bleiben, in welchen die Krystalle eingeschlossen waren. Es besteht der Niederschlag demnach aus zwei Körpern, einem farblosen, krystallisierten und acetonlöslichen, der kaum etwas anderes sein dürfte als eine Jodverbindung des Tannins oder einer im Prozesse frei werdenden Phenolcarbonsäure, und einem braunen, amorphen und acetonunlöslichen, den wir als eines der gewöhnlichen Oxydationsprodukte des Tannins ansehen können, wie sie sich bei jeder länger stehenden Gerbstofflösung ausscheiden, hier vielleicht im Zusammenhang mit der Bildung des krystallisierten Körpers. Daß sich jene sehr gerne an feste, in der Flüssigkeit schwebende Teilchen ansetzen, lehrt jede durch längere Zeit unbenutzt stehende Tanninlösung, in welcher Baumwollfasern oder andere Schmutzteilchen schwimmen.

Wie durch Aceton der Krystall aus seiner widerstandsfähigen Hülle herausgelöst wird, so gelingt es umgekehrt durch langandauernde Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure im Exsikkator die braune Hülle zu verkohlen und den eingeschlossenen Körper in großen, schönen, farblosen, nadelförmigen Krystallen von unglaublicher Empfindlichkeit zu erhalten (Fig. 2B). Ähnliche Niederschlagsbildungen erhielt ich auch durch längere Einwirkung von Bromwasser auf Lösungen von Rohtannin.

Bei Berücksichtigung aller in diesem Abschnitt mitgeteilten Tatsachen kann das Folgende über den Reaktionsvorgang in der lebenden Zelle mit einiger Wahrscheinlichkeit ausgesagt werden:

Die Reaktion wird durch Sauerstoff, der sich aus Wasser unter Einwirkung von Jod entwickelt, unter Mitwirkung oxydierender Enzyme eingeleitet, wobei Oxydationen durch Wasserstoffbindung der gelösten Gerbstoffe mitbeteiligt sein können. Die entstehenden Phlobaphene speichern das weiter zuströmende Halogen in hohem Maße, wobei neben starker Adsorption auch chemische Bindung von Jod nicht ausgeschlossen ist.

Versuche, die mit wässerigen Chlor- und Bromlösungen durchgeführt wurden, lehrten, daß hierbei in den Zellen gleichfalls braune Körper verschiedener Löslichkeit entstehen können, daß aber ein im Effekte gleichwertiger Ersatz des Jods durch seine in Wasser weit löslicheren Verwandten nicht möglich ist, vor allem deshalb nicht, weil die angewandten Lösungen viel früher die lebende Struktur des Plasmas beeinträchtigen. Es wäre erforderlich, mit Chlor oder Brom im Wasser jene Konzentrationsverhältnisse erst zu schaffen, die sich bei Benutzung des festen Jods unter gewöhnlichen Bedingungen aus der allmählichen Lösung und ihrer Diffusion von selbst ergeben.

4. Das auf die Brauchbarkeit der Reaktion geprüfte Pflanzenmaterial.

Zur Feststellung der Brauchbarkeit unserer Methode wurde eine ziemlich große, wenn auch nicht alle Möglichlichkeiten der Gerbstoffverbreitung in der Pflanze berücksichtigende Anzahl von Objekten aus verschiedenen Verwandtschaftskreisen der Phanerogamen herangezogen: ein- bis dreijährige Rinden von Holzpflanzen, Blätter und Jungsprosse

wintergrüner Pflanzen, deren Gerbstoffreichtum wohlbekannt ist ruhende und treibende Winterknospen. Früchte und Fruchtknoten, eine Keimpflanze und eine Staude, alles ohne besondere Wahl, wie die Dinge mir gelegentlich in den Gewächshäusern oder im Freien in die Hand kamen. Die betreffenden Organe wurden jedesmal zum Vergleich mit Kalibichromat und Eisensalzen behandelt, unter welchen ich die rasch eindringende offizinelle Tinctura ferri acetici bevorzugte. Bei meinen Prüfungen achtete ich besonders darauf, ob die Jodreaktion in der hier befolgten Durchführung die Gefahr einer Verwechslung der braunen Erzeugnisse mit irgendwelchen anderen Inhaltsbestandteilen der Zelle ermöglicht, ein Einwand, der bekanntlich der Nasse'schen Probe gegenüber von Moeller gemacht wurde. Was ich hierüber erfahren, soll bei der nun folgenden Aufzählung des untersuchten Materials bemerkt werden. Ich darf wohl vorwegnehmen, daß sich fast durchwegs eine vollkommene oder nahezu vollkommene Gleichheit des Reaktionserfolges bei Anwendung von Jod und Kalibichromat herausgestellt hat. Auf kleine Abweichungen, die durch den weit langsameren Verlauf der Jodreaktion verursacht sind, wird gleichfalls bei den betreffenden Objekten hingewiesen werden.1

¹ Ursprünglich, war zudem beabsichtigt, darauf zu achten, ob in jedem einzelnen Falle eisengrünende oder eisenbläuende oder beiderlei Gerbstoffe vorliegen, da in letzter Zeit dieser Unterscheidung abermals einige Bedeutung zugesprochen wurde (z. B. Luigi E. Cavazza, Studi microchimici e fisiologici sui tannini. Zeitschr. für wissensch. Mikroskopie, XXVI., 1909, S. 60 und Tabelle auf p. 63; K. Peche, Über eine neue Gerbstoffreaktion und ihre Beziehung zu den Anthocvanen. Ber. der Deutschen bot. Gesellsch., XXXI., 1913, p. 462 ff.). Ich muß nun offen gestehen, daß mir die Entscheidung unter dem Mikroskop - bei Extrakten im Reagenzglase ist es anders - schon immer nicht recht einwandfrei möglich erschienen ist und auch diesmal nicht immer ohne auftretende Zweifel gelang. Ist der Gerbstoffgehalt der Zellen groß und die Fällung gelungen, so ist der Niederschlag weder blau noch grün, sondern eben schwarz; handelt es sich aber um eine diffuse Färbung der Zelle, so ist häufig und besonders in chlorophyllhaltigen Geweben der Farbenton ein solcher, daß die Beantwortung, ob noch grün oder schon eher blau oder umgekehrt, sehr nach dem subjektiven Ermessen des Beobachters ausfällt. Soweit ich feststellen konnte, gelingt die Jodreaktion in beiderlei Fällen.

Im folgenden bedeutet + starker Gerbstoffgehalt, \pm mittlerer Gehalt, - geringe Mengen, 0 Fehlen von Gerbstoff.¹ Die römische Ziffer neben dem Namen gibt den Monat an, in dem die Untersuchung erfolgte. G bedeutet aus dem Gewächshause, F aus dem Freien.

A. Ein- bis dreijährige Rinden von Holzpflanzen.

Acer platanoides L. XI. F. \pm in den meisten Rindenzellen die Faserbündet ausgenommen.

Alnus glutinosa Med. XI. F. + in der primären Rinde bis zum schmalen geschlossenen Faserring und in den Rindenmarkstrahlen.

Carpinus Betulus L. XI. F. + wie bei Alnus.

Elaeagnus sp. XI. F. 0 in der peripheren Rinde, + in der sekundären Rinde. Pinus sylvestris L. XII. F + in der primären Rinde, ± in der sekundären Rinde. Der Inhalt der Harzkanäle nimmt im Reagens eine schwarzgrüne Färbung an und kann selbst durch lang andauernde Alkoholnachbehandlung nicht mehr entfernt werden. Mit der Zeit verblaßt seine Färbung.

Populus monilifera Ait. XI. F. + in der peripheren Rinde, besonders zwischen den Fasergruppen; 0 in der sekundären Rinde.

Pterocarya sorbifolia Sieb. et Zucc. XI. F. + in den meisten Zellen der Rinde, gegen die Peripherie zunehmend.

Quercus Robur L. XI. F. + in der ganzen Rinde, besonders in den Rindenmarkstrahlen.

Robinia Pseudacacia L. XI. F. 0.

Rosa indica × multiflora (Crimson Rambler) XI. F. + in regelmäßig verteilten Zellgruppen.

Syringa vulgaris L. XI. F. — in den Rindenmarkstrahlen und vereinzelten an die Faserbündel grenzenden Zellen.

B. Blätter und Jungsprosse.

Acacia falcata Willd, II. G. + in der Rinde und im Zentralmarke des Sprosses, \pm in den beiderseitigen Palisaden, + im restlichen Mesophyll des Blattes.

Arbutus Andrachne L. und A. Unedo L. I. G. + Rinde, Markstrahlen und Mark des Sprosses, + im ganzen Blatte mit Ausnahme der zweiten Palisadenschichte.

¹ Von einer genauen Angabe der Gerbstoffverteilung in den Geweben wurde mit Rücksicht auf die vorhandenen reichen Angaben in der Literatur, insbesondere in G. Berthold, Untersuchungen zur Physiologie der pflanzlichen Organisation, I. Leipzig (Engelmann) 1898 und II. 1904, abgesehen. Für einzelne Fälle folgt die Angabe später.

- Buxus balearica Lam. (stark beschattet). II. G. in den periphersten Schichten der Sproßrinde und in der oberen Epidermis des Blattes. Die von van Thieghem¹ beschriebenen, im Mesophyll und in der primären Rinde vorkommenden Sekretzellen, deren wasser- und alkoholunlöslicher Inhalt durch Jod, wie schon der genannte Autor hervorhebt, stark gebräunt werden, erhalten im Reagens ein Aussehen, das der Gerbstoffreaktion entspricht. Kalibichromat wirkt auf den weiter nicht untersuchten Stoff füllend und färbend ein, das in Tropfen im ventralen Mesophyll und besonders im Blattstiel reichlich gespeicherte Fett geht bei der Behandlung verloren und stört somit das anatomische Bild nicht.
- Ceratonia Siliqua L. I. G. + in der Rinde und in einzelnen Zellen des Sproßmarkes, + in den Epidermen, ± im Mesophyll des Blattes.
- Cucorum tricoccon L. I. G.

 in den peripheren Schichten der Sproßrinde und in den beiden Blattepidermen. Der Inhalt der in der Rinde kreisförmig angeordneten runden Sekretzellen

 wird sowohl durch Kalibichromat als auch durch die Jodbehandlung in heller Körnelung gefällt.
- Coffea arabica L. XII. G. \pm in der Rinde, + im peripheren Sproßmark, beiderseits in der subepidermalen Mesophyllschichte des Blattes.
- Convoloulus Cacorum L. I. G. \pm in der Rinde und im peripheren Sproßmarke, + in den Epidermen, in den Bündelscheiden des Blattes. Echeveria sp. III. G. \pm in verstreuten Zellen von Sproß und Blatt.
- Echium fastuosum Jac. II. G. ± in Rinde und Mark, + in den Blattbasen, fast 0 im Blatt.
- $\it Rex\ cornuta\ Lindl.\ et\ Paxt.\ I.\ G.\ \pm\ in\ peripheren\ Rindenschichten\ und$ \circ in den Epidermen des Blattes.
- Laurus nobilis L. XII. G. + in Rinde, Markstrahlen und Mark des Sprosses, + beiderseits in je einer subepidermalen Mesophyllschichte des Blattes, ± im Mesophyll verstreut. Der ölige Inhalt der Sekretzellen wird durch die Behandlung entfernt.
- Lavatera arborea L. II. G. in vereinzelten Zellen der peripheren Rinde und in peripheren Schichten des Blattes. Die Schleime werden durch die Behandlung aus den Geweben entfernt, Membranschleim rasch entfärbt.
- Myoporum strictum A. Cunn. XI. G. in der Sproßrinde, ± in einzelnen Assimilationszellen des Blattes. Der durch Jod gebräunte Inhalt der Sekretlücken wird durch Alkohol entfernt.

¹ Vgl. H. Solereder, Systematische Anatomie der Dicotyledonen, Ergänzungsband. Stuttgart (Ferd. Enke) 1908, p. 293.

² »Von Sekretelementen finden sich im Zweige der Simarubaccac-Harzgänge, Sekretzellen mit harzigem Inhalt, Schleimräumen und Sekretlücken mit harzigem Inhalte; Solereder, Systematische Anatomie der Dicotyledonen, Stuttgart 1899, p. 211.

- Nerium Oleander L. in vereinzelten Zellen der Sproßrinde, des Markes und im beiderseitigen Blatthypoderma.
- Pelargonium malvaefolium Jacq. G. Während des ganzen Jahres. Wechselnde Mengen in verstreuten Zellen von Blatt und Sproß. Das Sekret der Drüsenhaare wird bei der Behandlung entfernt.
- Phillyrea latifolia L. I. G. ± in der Sproßrinde, ± in beiden Epidermen und in der beiderseitigen subepidermalen Schichte, + in den Bündelscheiden des Blattes. Die Reaktion mit Kalibichromat ist bei schwächerem Gerbstoffinhalt auffälliger als die Jodreaktion.
- Phlomis ferruginea Tenore, I. und III. G. in manchen Zellen der Sproßrinde, in der Umgebung der Blattnerven.
- Prunus Laurocerasus L. I. und III. G. + in der peripheren Rinde, + in den Rindenmarkstrahlen und in verstreuten Zellen des Sproßmarkes; + in den Epidermen und in anschließenden Mesophyllschichten, + in den Bündelscheiden des Blattes. Das in Tropfenform im Blatte gespeicherte Fett verschwindet und entfärbt sich auch nach sehr langer Alkoholbehandlung nicht. Das gelbliche Krümmelwerk mag mit einer Gerbstoffällung aus schwächer konzentrierter Lösung verwechselbar sein. Bei stärkerer Gerbstoffkonzentration ist der Farben- und Formunterschied unverkennbar.
- Rosmarinus officinalis L. XII. und III. G. Sproß: \pm in der äußersten Rinde,
 im peripheren Marke, in Elementen des Siebteils; Blatt: \pm in
 den chlorophyllfreien Blattzellen, in der ersten Palisadenschicht. Die
 Reaktion mit Kalibichromat ist hier auffälliger. Das Öl der Drüsenhaare
 wird durch die Behandlung entweder entfernt oder mindestens entfärbt.
- Scindapsus Cuscuaria Presl. II. G. Blatt: in Zellen des oberseitigen Assimilationsgewebes, ± in mancher Zelle des Begleitparenchyms des Medianus; in Bündelscheidenzellen des Blattstiels. Reaktion mit Kalibichromat viel auffälliger.
- Siphocampylus bicolor G. Don. H. G. 0 in Blatt und Sproß. Der Inhalt der Milehsaftröhren wird sowohl durch die Jodbehandlung als auch durch Kalibichromat zu einer graugelben gekörnten Masse niedergeschlagen.
- Tarchonanthus camphoratus L. XI. G. ± um die Bastbelage im Sprosse, ± in Epidermis und erster Palisadenschicht des Blattes. Das Öl der Drüsenhaare ist schwer löslich, entfärbt sich jedoch im Alkohol vollkommen.
- Viburnum fragrans Bunge, II. G. im Sprosse, in allen Geweben des Blattes. In den Blättern fand sich ein Jod stark speicherndes Sekret, das weder nach der anatomischen noch nach der mikrochemischen Seite weiter untersucht wurde; 1 es verschwindet bei der Alkoholnachbehandlung vollkommen. Bezüglich des im Blatte gespeicherten Fettes gilt das bei Prunns Lauvocerasus Gesagte.

¹ In Solereder's Systemat. Anat. findet sich hierüber keine Angabe.

Viburuum Tinus L. I. G. + in der peripheren Sproßrinde; + in der ersten Palisadenschicht, ± in den Epidermen, + in den Bündelscheiden des Blattes.

C. Verschiedene Organe.

Centropogon Lucyanus Schoenland, Fruchtknoten, XI. G. — in den peripheren Schichten und in Elementen des Siebteils.

Cneorum tricoccon L. Fruchtsleisch, I. G. + in verstreuten Zellen.

Franciscea eximia Scheidw. Fruchtknoten, XI. G. ± in der Epidermis und in darunter liegenden Zellschichten der Fruchtwand.

Galipea pentandra St. Hil. unreife Frucht, XI. G. + in der ganzen grünen Fruchtwand.

Gentiana acaulis L. II. F. 0 in den Blättern und Blüten, \pm in den oberirdischen Sprossen, + im unterirdischen Sproß. Bezüglich des hier reichlich gespeicherten Fettes gilt das für $Prunus\ Laurocerasus\ Gesagte.$

Phaseolus multiflorus Willd. Keimpflanze, II. G. — in einigen Zellen des Siebteils des Epikotyls, — in der oberseitigen Epidermis und den Trichomhydathoden der Primärblätter.

Primula kewensis Hort, XI. G. Fruchtknoten: + in der Fruchtwand, + in der zentralen Plazenta und den Samenknospen.

Prunus Cerasus L. III. F. Jungtrieb und Straußknospen: Wechselnde Mengen in scharf gekennzeichneten Gewebeschichten.

Pyrus communis L. II. und III. F. Langtrieb und Laubknospen, Kurztrieb und Blütenknospen: Wechselnde Mengen in scharf gekennzeichneten Gewebeschichten.

Pyrus malus L. III. F. Langtrieb: — in den Rindenmarkstrahlen und im Marke; Laubknospen: — in deutlich hervortretenden Zellschichten.

Sarothamnus scoparius Koch. XI. G. Fruchtknoten: 0.

Scindapsus Cuscuaria Presl. II. G. Reifende Beere: + in sehr vereinzelten Zellen des Fruchtsleisches, + in peripheren Schichten des Samens, bei der Reife zunehmend.

Wenn auch die Prüfung nicht auf alle durch Gerbstoffgehalt ausgezeichneten Organe ausgedehnt wurde, so glaube ich auf Grund der Erfahrungen mit dem angeführten Untersuchungsmaterial mit einiger Berechtigung sagen zu dürfen, daß die Jodgerbstoffreaktion sich den bisher verwendeten Reaktionen vollkommen gleichwertig an die Seite stellen läßt. Der Einwand, daß Jod eine Unterscheidung der verschiedenen Zellinhaltskörper nicht ermögliche, gilt für die hier befolgte Durchführung der Reaktion nicht, da der über den Zellentod ausgedehnte Aufenthalt in der wässerigen Lösung, die unbegrenzt ausdehnbare Nachbehandlung mit Alkohol, der man

ohne Gefahr für die Gerbstoffderivate auch Behandlungen mit Äther und anderen Lösungsmitteln folgen lassen kann, die pflanzlichen Gewebe von allen durch Jod verursachten Färbungen befreit. Einige Hartnäckigkeit zeigen mitunter die Jodfettprodukte. Verwechslungen sind aber auch hier ausgeschlossen, wenn man sich zuvor durch entsprechenden Nachweis von der Anwesenheit eines fettartigen Körpers überzeugt hat.

Dem Vorteil der Jodgerbstoffreaktion, der vor allem in ihrer Sauberkeit und in ihrer Anwendung am fertigen Schnitt ohne Vorbehandlung ganzer Organstücke liegt, steht nun als Nachteil gegenüber, daß bei sehr geringem Gerbstoffgehalt einer Zelle die durch Jod erzielten Effekte an Deutlichkeit den Erzeugnissen des Kalibichromats und häufig auch der Eisensalze nachstehen. Einen Nachteil teilt die Jodgerbstoffreaktion allerdings mit allen übrigen Reagentien: sie ist wie diese nicht chemisch scharf umgrenzend. Wenn auch die Nasse'sche Jodpyrogallolreaktion nur für bestimmte Phenolabkömmlinge als bezeichnend angegeben wird, so wäre ein Übertragen dieses Verhaltens auf die hier behandelte Reaktion so lange verfrüht, als nicht entschieden ist, ob der Ablauf der Reaktion dort und hier derselbe ist. Dieser immer wieder betonte Mangel aller phytochemisch verwendeten Gerbstoffreagentien wird vielleicht nicht so sehr fühlbar, wenn es sich um die Bestimmung von Stoffen handelt, die über größere Gewebekomplexe mehr oder weniger gleichmäßig verteilt sind und deren Zusammengehörigkeit wenig zweifelhaft erscheint, als vielmehr dann, wenn die Frage nach der Natur von Stoffen oder Stoffgemischen auftaucht, die in besonderen Behältern, wie Gewebelücken, Schläuchen, Kanälen oder auch nur eigentümlich geformten Zellen vom Organismus abgelagert werden.1

5. Gerbstoff und Stärke.

Von den Vorteilen der Jodreaktion ist wohl keiner so augenfällig wie die gleichzeitige Hervorhebung der Gerbstoff-

¹ Die bei solchen Untersuchungen sich ergebenden Schwierigkeiten finden sich in der Literatur genügend gewürdigt.

und Stärkeverteilung im Gewebe. Bei Anwendung des Jodsin der mitgeteilten Weise wird man unwillkürlich auf die alte Frage hingelenkt, ob diese zwei Inhaltsstoffe zueinander Beziehungen haben und im weiteren Zusammenhang damit, ob die oft reichen Gerbstoffablagerungen in pflanzlichen Geweben besonders dort, wo ihre weitere Oxydation zu Zwecken des Schutzes, wie in Rinden und Schalen, nicht ohne weiteres einleuchtet, nicht doch im Stoffwechsel weitere Verwertung finden. Ich glaube, daß ich es mir ersparen kann, alle Wandlungen wiederzugeben, welche die Gerbstoffrage im allgemeinen vom Standpunkt des Pflanzenphysiologen im Laufe der fortschreitenden Erkenntnisse erfahren mußte. Derartige historische Rückblicke sind genug oft in unserer Literatur zu finden; hervorgehoben sei die Zusammenstellung von Gregor Kraus,1 die eingehende Würdigung, die Czapek dem Gegenstand in seiner Biochemie der Pflanzen² geschenkt hat und aus neuerer Zeit die Einleitung zu den Gerbstoffstudien an Gumera von Walter Arnhold.3 Nur auf einen besonderen Teil der Frage, dessen ich mich bei der Prüfung der Anwendbarkeit des Jodreagens nicht erwehren konnte, sei kurz eingegangen: Bestehen zwischen Stärke und Gerbstoff in den pflanzlichen Geweben Beziehungen oder nicht. Es sei gleich bemerkt, daß diese Frage rein histologisch gestellt ist und auch in keiner anderen Weise auf Grund der gewonnenen Tatsachen beantwortet werden kann.

Für einen sehr engen Zusammenhang der Körper sprach sich bekanntlich zuerst Wigand⁴ aus, der in den Gerbstoffen im Gegensatz zu der stabileren Stärke die Form der transitorischen Stoffspeicherung bei regerer Entwicklung sah; durch

¹ Gr. Kraus, Grundlinien zu einer Physiologie des Gerbstoffes. Leipzig (Engelmann) 1889, p. 69 ff.

² II. Band, 1. Aufl., p. 587 ff.

³ Walter Arnhold, Über das Verhalten des Gerbstoffes bei Gunnera, Kieler Inauguraldissertation 1911.

⁴ A. Wigand, Einige Sätze über die physiologische Bedeutung des Gerbstoffes und der Pflanzenfarbe. Botan. Zeitung, 20., 1862, p. 122.

Tatsachen ist diese Meinung äußerst wenig gestützt. Sanio1 fand beide Stoffe bald getrennt bald nebeneinander, auch in ein und derselben Zelle; ebenso Hartig,2 der ursprünglich an eine Entstehung des »Gerbmehles« aus dem Stärkemehl gedacht hatte. Wohl unter dem nachhaltigen Einfluß von Sachs³ lehnte Kutscher⁴ auf Grund ausgedehnter Untersuchungen jede Beziehung zwischen Gerbstoff und Stärke ab. Anders Westermaier, der schon bei seinen ersten Untersuchungen 5 gerbstoffhaltige Assimilationszellen stärkefrei fand und auf Grund der durch schöne Versuche ergänzten weiteren anatomischen Forschung 6 zur Aufstellung des Begriffes Amylom gelangte, als eines neben Tracheom und Leptom das Leitbündelgewebe zusammensetzenden Zellkomplexes, der aus gerbstoff- oder stärkeführenden Elementen besteht. Wenn Westermaier in den Gerbstoffen transitorische und leicht verfrachtbare Zwischenstufen der Eiweißsynthese aus den Produkten des Chlorophyllapparates erblickt, so kehrt er gewissermaßen zur Auffassung Wigand's zurück, zu der ihn die tatsächlichen Ergebnisse seiner Arbeiten allerdings eher berechtigen. Das Jahr 1888 brachte zwei voneinander unabhängige Arbeiten, beide auf der Untersuchung von Blättern fußend: die eine von E. Schulz,7 die andere von Hermann Moeller.8 Schulz findet, daß in wintergrünen Blättern Stärke

¹ C. Sanio, Einige Bemerkungen über den Gerbstoff usw., a. a. O., p. 20.

² Th. Hartig, Anatomie und Physiologie der Holzpflanzen, Berlin (Springer) 1878, p. 122 und 123.

³ J. Sachs, Zur Keimungsgeschichte der Dattel. Botan. Zeitung, 20., 1862, p. 242.

⁴ E. Kutscher, Über die Verwendung der Gerbsäure usw., a. a. O., p. 71 und 72.

⁵ Westermaier, Zur physiologischen Bedeutung des Gerbstoffes in den Pflanzen. Sitzungsberichte der Berliner Akademie, 1885, 2., p. 1115 ff.

⁶ Derselbe, Neue Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Bedeutung des Gerbstoffes in den Pflanzengeweben. Sitzungsberichte der Berliner Akademie, 1887, 1., p. 127 ff.

⁷ Ernst Schulz, Über Reservestoffe in immergrünen Blättern unter besonderer Berücksichtigung des Gerbstoffes. Flora, 71., 1888, p. 223 ff.

⁸ Herm. Moeller, Anatomische Untersuchungen über das Vorkommen der Gerbsäure, a. a. O.

und Gerbstoffe als Reservematerial sich ersetzen, H. Moeller verwendet die an den untersuchten Objekten gemachten ähnlichen Erfahrungen zur Stützung der Ansicht, daß die Gerbstoffe, da sie stets dort zu finden, wo Kohlenhydrate wandern, die Wanderform des Kohlenhydratmaterials sind. Hierbei ist, wie Czapek¹ bemerkt, der Einfluß der Pfeffer'schen Idee² von der auf Grund der leichten Veränderlichkeit und Aktionsfähigkeit der Tannoide möglichen Bedeutung dieser Körperfür den Transport von Zelle zu Zelle unverkennbar.

Ungünstige Erfahrungen mit anatomisch-mikrochemischen Methoden veranlaßten Gregor Kraus3 die Gerbstoffrage auf Grund makrochemischer Bestimmungen mit reichem Untersuchungsmaterial neu anzugehen. Die Versuche über den Lichteinfluß führen ihn zu vollkommen gleichen Resultaten wie seinerzeit Westermaier und auch die makrochemisch nachgeprüfte und bestätigt gefundene Tatsache von der Wanderung der Gerbstoffe aus den Assimilationsorganen in den Stamm ist eine Erweiterung und Bekräftigung der Befunde Westermaier's, der sich bekanntlich bemühte, in den untersuchten Organen »Gerbstoffbrücken« aufzudecken. Da Kraus' Bestimmungen aber auch nirgends eine Abnahme der Gerbstoffe erkennen lassen, finden wir es begreiflich, wenn er schließlich im allgemeinen zur Sachs'schen Auffassung von der Exkretnatur dieser Stoffe zurückkehrt und ausdrücklich betont, daß der Parallelismus im Einfluß der Belichtung für Kohlenhydrate und Gerbstoffe nur ein Zusammentreffen ohne nähere Beziehung zwischen den beiden Stoffgruppen ist.⁴ Die Kraus'schen Ergebnisse haben bis heute nachhaltig auf die allgemeine Auffassung der Gerbstoffrage gewirkt.

Ein neuerlicher Rückschlag ins Gegenteil sind gewissermaßen die auf eigenen breiten anatomischen Untersuchungen

¹ Biochemie der Pflanzen, II. (I. Aufl.), p. 591.

 $^{^2}$ Ausgesprochen in Ȇber Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen «, a. a. O., p. 311 und 312.

³ Grundlinien zu einer Physiologie des Gerbstoffes, a. a. O. Hier sind. seine und seiner Schüler Arbeiten zu finden.

⁴ A. a. O., p. 7.

und ergänzenden Arbeiten seiner Schüler fußenden Ausführungen G. Berthold's.1 Wohl niemals vorher ist der Verteilung der Gerbstoffe, der Stärke und des Zuckers in pflanzlichen Organen unter Berücksichtigung des Entwicklungsstadiums und auch einiger äußerer Bedingungen eine so erschöpfende und vielseitige Bearbeitung zuteil geworden und man kann nur beklagen, daß Berthold die Verwertung des großen Tatsachenmaterials der weiteren Forschung nicht dadurch erleichtert hat, daß die Schlußergebnisse für die einzelnen Arten und deren Organe in übersichtlichen schematischen Darstellungen zusammengefaßt worden wären. Im Gegensatz zu den Ergebnissen Kraus' finden wir bei der Einsicht in das reiche Berthold'sche Material die Gerbstoffe in großer Beweglichkeit, der Speicherung folgt das Verschwinden bald hier bald dort nicht anders als bei Stärke und Zucker. Wenn Berthold auf Grund solcher Erfahrungen diese Körper als Reservematerial zusammenfaßt - Gerbstoffe mit der zu Beginn des Abschnittes mitgeteilten Einschränkung —, so ist der Gedanke nicht ohne weiteres abzulehnen. Die Beziehung aber zwischen diesen Körpern erhellt am besten aus Berthold's eigenen Worten: 1 »Die besondere nach dem Entwicklungszustand und der Region gesetzmäßig wechselnde physiologische Natur der einzelnen Gewebe entscheidet in erster Linie darüber, in welcher Form die Ablagerung statthat« und »diese besonderen Qualitäten und Gewebe und Zellen entscheiden auch darüber, ob in ihnen mehr oder weniger Stärke, eine mehr oder weniger konzentrierte Lösung von Zucker oder Gerbstoff auftritt.« Also der gleichartig zugeleitete Stoff wird je nach der physiologischen Natur der Zelle bald in der einen bald in der anderen Form vorübergehend gespeichert.

Der hier ausgesprochene Gedanke von der Zusammengehörigkeit von Form, Membran und Inhalt für die Charakterisierung einer Zelle oder eines Gewebes, worauf Berthold mit Nachdruck des öfteren hinweist, findet sich übrigens mit

¹ Untersuchungen zur Physiologie der pflanzlichen Organisation; a. a. O.

² A. a. O., II. Teil, erste Hälfte, p. 169.

Beziehung auf den »autochthonen« ¹ Gerbstoff schon einmal bei Gr. Kraus und sagt nichts anderes, als was uns die bei Pfropfungen gemachten Erfahrungen rücksichtlich der spezifischen und im großen und ganzen unbeeinflußbaren stofflichen Verhältnisse der Symbionten gelehrt haben.²

I.

Der extremste, der Berthold'schen Auffassung entsprechende Fall ist, wenn wir uns auf die durch unser Reagens gleichzeitig hervorgehobenen Stoffe beschränken, dadurch gegeben, daß bei »homogenen« Geweben eines Organs in den einzelnen Geweben, bei »differenziertem«3 Gewebe in den einzelnen Zellen des betreffenden Gewebes Stärke und Gerbstoff einander vollständig ausschließen. Dies kommt, wie schon Schulz und H. Moeller, dann Berthold selbst gefunden, häufig vor und scheint nach Angaben des Göttinger Schülers Wagner 4 für die Crassulaceen Regel zu sein. Die Angaben älterer Autoren über diese Frage können mit Rücksicht auf die damals noch wenig entwickelten mikrochemischen und optischen Hilfsmittel, die Täuschungen nicht ganz ausschließen, füglich außer acht gelassen werden. Im folgenden seien meine Erfahrungen an dem vorhin verzeichneten Material kurz mitgeteilt.5

- ¹ So nennt Gr. Kraus den an Ort und Stelle aus andersartigem Material gebildeten Gerbstoff im Gegensatz zu dem als solchem zugeleiteten Gerbstoff (Wandergerbstoff); a. a. O., p. 57 und 58.
- ² Bezüglich des Gerbstoffes sind die Ergebnisse der von Joh. Buder durchgeführten anatomischen Untersuchung des Cytisus Adami bemerkenswert: Studien an Laburnum Adami, II. Allgemeine anatomische Analyse des Mischlings und seiner Stammpflanzen. Zeitschr. für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, V, 1911, p. 213 und Fig. 3.
- ³ Ein homogenes Gewebe ist nach Berthold eine aus völlig, also auch dem Inhalt nach gleichärtigen Zellen zusammengesetztes Gewebe; besteht ein morphologisch einheitliches Gewebe aus inhaltlich verschieden en Elementen, so nennt es Berthold differenziert. Vgl. a. a. O., II., p. 48, 72 und an vielen anderen Stellen.
- ⁴ Ed. Wagner, Über das Vorkommen und die Verteilung des Gerbstoffes bei den Crassulaceen. Inauguraldissertation aus Göttingen, 1887.
- 5 In eine von Tunmann (Pflanzenmikrochemie, p. 252) herangezogene Arbeit von G. Albo, L'azione del tannino sulla germinazione e sullo sviluppo

Bei der Untersuchung über die wechselseitige Ausschließung von Stärke und Gerbstoff leistet unser Reagens deshalb wertvolle Dienste, weil die zwei Stoffe gleichzeitig und wohl gekennzeichnet im mikroskopischen Bilde erscheinen und zudem der Verlauf der Jodreaktion, wie wir nunmehr wissen, eine Fixierung von falsch lokalisierten Gerbstoffen ausschließt. Allerdings mußte eine Angabe Heintz' und Czapek's 1 berücksichtigt werden, wonach Tannin und andere Phenolabkömmlinge die Blaufärbung von Stärke verhindern. Um daraus möglicherweise sich ergebenden Täuschungen vorzubeugen, wurden die betreffenden Schnitte folgender Nachprüfung unterzogen: sie kamen in Javelle'sche Lauge, die, wie erinnerlich, die Phlobaphene angreift und verblieben hier so lange, bis die ursprünglich gerbstofführenden Zellen nur mehr schwach gelblich gefärbt waren, so daß sie als solche im Mikroskop noch deutlich erkennbar blieben. Eine neuerliche Behandlung mit Jod zeigte nach solcher Vorbereitung selbst die kleinsten Spuren von Stärke an.2

Was mich die zahlreichen Präparate von Organen der verschiedenen Pflanzen lehrten, läßt sich etwa so ausdrücken: Der wechselseitige Ausschluß von Stärke und Gerbstoff ist Regel; kommen beiderlei Körper innerhalb einer und derselben Zelle nebeneinander vor, so ist eine Abnahme des einen bei gleichzeitiger Zunahme des anderen unverkennbar. Einige Ausnahmen werden später angeführt. Die Figuren 1, 2, 3, 4 und 8 der Tafel mögen das Gesagte augenfällig zeigen, einige Beispiele seien zudem besprochen.

Im jungen Sprosse von Acacia falcata sind am 6. Feber die äußersten Partien der primären Rinde durchaus gerbstoff-

del Solanum tuberosum, Nuovo giornale bot. italiano, XI., 1904, p. 521, konnte ich nicht Einsicht nehmen. Nach Albo ist der Gerbstoff Nährstoff und wird mit der Stärkebildung in Verbindung gebracht.

¹ Biochemie der Pflanzen, I. (1. Auflage, die 2. Auflage berücksichtigt die Mikrochemie nicht mehr), p. 315, vgl. auch Tunmann, Pflanzenmikrochemie, p. 502.

² Es ist dies eine seinerzeit von Heinricher angegebene Methode: Verwendbarkeit des Eau de Javelle zum Nachweis kleinster Stärkemengen. Zeitschr. für wissensch. Mikroskopie, 3., 1883, p. 213.

führend und stärkefrei, daran schließt außerordentlich scharf umgrenzt eine stärkereiche und gerbstoffreie Ringzone, in welcher die Fasern liegen, daran die völlig stärkefreie, dafür besonders gerbstoffreiche Zone der sekundären Rinde, daran das mit Stärke dicht gefüllte und vollkommen gerbstoffreie Holz, daran das Mark, das aus stärkeführenden gerbstoffreien und aus gerbstofführenden stärkefreien Zellen zusammengesetzt ist.

Im jungen Sprosse von Ceratonia Siliqua ist am 16. Jänner die Rinde vollkommen stärkefrei, in den äußersten Partien und besonders in den Fortsetzungen der Markstrahlen lagern bedeutende Mengen von Gerbstoff, das Holz hingegen ist einschließlich der Markstrahlen mit Stärke dicht gefüllt und im allgemeinen gerbstoffrei. Nur in vereinzelten Zellen der Strahlen deutet eine gelbliche Tönung auf schwachen Gerbstoffgehalt. Das Mark ist mit Stärke vollgepfropft, vereinzelte Zellen leuchten stärkefrei und gerbstofführend aus der schwarzblauen Masse rotbraun hervor.

Ganz ähnlich verhält sich am 24. Jänner der Jungsproß von *Phillyrca latifolia*. Nur die Gerbstoffzellen des Markes haben, wie ihre lichtgelbe Tönung anzeigt, Gerbstoff verloren und enthalten dafür gleichfalls Stärke.

Ein vorjähriger Langtrieb der Birne zeigt am 11. März vor dem Ausschlagen seiner Knospen in der primären Rinde inhaltsreiche, abwechselnd mit Stärke oder Gerbstoff gefüllte, im Gewebe gleichmäßig verteilte Zellen. In der sekundären Rinde überwiegen die gerbstofführenden Elemente; besonders gerbstoffreich sind die Rindenmarkstrahlen, hier sind Stärkezellen Ausnahmen; in mancher gerbstoffreichen Zelle lagert etwas kleinkörnige Stärke. Das Holz einschließlich der Markstrahlen und das Zentralmark ist hingegen mit Stärke vollgepfropft und nahezu gerbstoffrei; vereinzelte Zellen zeigen gelbe Tönung.²

¹ Sie bilden die von früheren Forschern vielfach beschriebenen Netze oder Brücken.

² Von der wechselseitigen Ausschließung der beiden Inhaltsstoffe und deren Verteilung im Querschnitt eines einjährigen Holztriebes gibt Hartig's Darstellung des Eichenzweigquerschnittes (Anatomie und Physiologie der

Ähnliche Verhältnisse weist am gleichen Tage eine Jungrute der Weichsel auf, nur findet sich außerhalb des Kambiumringes überhaupt keine Stärke.

Ein um die gleiche Zeit untersuchter Apfellangtrieb hat innerhalb des Kambiumringes ähnliche Verhältnisse, außerhalb dieser Grenze unterscheidet er sich dadurch, daß die Rindenmarkstrahlen in den inneren, an das Holz grenzenden Zonen gerbstofführend, in den äußeren durchaus stärkeführend sind. Die primäre Rinde ist gerbstoffrei.

Ein besonderes Augenmerk richtete ich auf bekannt gerbstoffreiche Objekte, wie die wintergrünen Blätter und die Vegetationspunkte oder ruhenden Knospen gerbstoffreicher Pflanzen. Für jene fand ich im großen und ganzen die Angaben Schulz' und Moeller's bestätigt. Als Beispiel seiunter Hinweis auf Fig. 1 auf p. 7 das am 6. Feber untersuchte Blatt von Viburnum fragrans angeführt. Wie bei den Sprossen vielfach Stärke- und Gerbstoffringzonen von außen nach innen abwechseln, so in den Blättern stärke- und gerbstofführende Horizonte. Der dargestellte Gegenstand ist ein von der Unterseite gesehener Teil eines Flächenschnittes durch das Schwammgewebe des Blattes. Unter dem dunklen, hie und da beim Schneiden nicht mitgetroffenen Netze der gerbstoffreichen Zellen wird der in Wirklichkeit darüber liegende gerbstoffreie, dafür aber stärkeführende Horizont sichtbar, dessen Blaufärbung des Bildkontrastes wegen durch länger andauernde Alkoholbehandlung zerstört wurde. Geradean solchen gerbstoffüberreichen Geweben konnte stets die Regel vom wechselseitigen Ausschluß der beiden Körperbestätigt werden. Wenn überhaupt in diesen Zellen Stärke vorhanden ist, so handelt es sich stets um ganz kleinkörnige und äußerst bescheidene Mengen. Nur in den Parenchymscheiden der Nerven (eine ist im Bilde sichtbar) sind in einem und demselben Zellenzuge neben stärkeführenden und neben mit Gerbstoff beladenen Zellen vereinzelt auch Elemente eingeschaltet, die beide Körper in reicherer

Holzpflanzen, Taf. I) trotz der teilweise unrichtigen Deutung ein vorzügliches Bild.

Menge vereinen. Um solche Ausnahmen, die gleichsam als Grenzfälle des wechselseitigen Ausweichens der Körper bei überaus reicher Stoffzufuhr anzusehen sind, handelt es sich auch jedenfalls bei den Gallen, für welche Küstenmacher¹ ein gemeinsames Auftreten von Stärke und Gerbstoff in der Zelle angibt, oder bei den außerordentlich gerbstoffreichen Arten von Gunnera, in denen nach Arnhold² ähnliches anzutreffen ist.³

In den inhaltsreichen Vegetationspunkten, beispielsweise von *Pelargonium*, deren mit gerbstoffreien Elementen abwechselnden Gerbstoffzellenzüge in ihrer Genese und Entwicklung schon mehrmals beschrieben wurden, konnte, wann immer die Untersuchung erfolgte, keine Ausnahme angetroffen werden. Gute Schnitte durch die Sproßgipfel bieten, mit dem Reagens behandelt, in ihrer unterbrochen blau-rotbraun oder gelben Streifung besonders prächtige Bilder. Das Gleiche gilt in jeder Beziehung von den ruhenden und mit dem Triebe beginnenden Knospen der Holzpflanzen, von denen ich besonders eingehend Apfel, Birne und Weichsel untersuchte.

Zum Schlusse sei noch ein Objekt herangezogen, dessen sich frühere Forscher nicht bedient haben: die zentrale Plazenta im Fruchtknoten von *Primula*. Hier strahlen von der leitenden, gerbstoffreichen Organachse gegen die Peripherie sich verbreiternde Zellenzüge reich mit Gerbstoff beladen auseinander. Dazwischen ist alles mit Stärke erfüllt und gerbstoffrei. Keine gerbstofführende Zelle enthält Stärke. Diese vom Zentrum zu den mit Gerbstoff gefüllten und stärkefreien Samenknospen ziehenden Zellreihen sind die idealsten »Gerbstoffbrücken«, die

¹ Küstenmacher, Beitr. zur Kenntnis der Gallenbildungen mit Berücksichtigung des Gerbstoffes. Jahrb. für wissensch. Bot., XXVI., 1894, z. B. p. 132 und andere Stellen.

² A. a. O., p. 17.

³ Die wechselseitige Ausschließung von Stärke und Gerbstoff geht auch aus Studien an den Schließzellen der Spaltöffnungen hervor; vgl. Hagen, Zur Physiologie des Spaltöffnungsapparates. Beitr. zur allgem. Botanik, Berlin (Borntraeger) 1916, p. 283. Ähnliches fand Hans Böhmker in Nektarien; vgl. H. Böhmker, Beiträge zur Kenntnis der floralen und extrafloralen Nektarien. Beihefte zum Botan. Centralbl. XXXIII, 1. Abt. 1917, p. 245 und 246. (Ergänzung während des Druckes.)

mir je untergekommen. Anhänger der Auffassung, daß Gerbstoffe als solche wandern, hätten an diesem Objekt viel Freude gehabt.

П.

Die Durchmusterung meines Untersuchungsmaterials nach den Beziehungen zwischen Gerbstoff- und Stärkeverteilung hatte ein weiteres Ergebnis, Nach den ausgedehnten Studien Berthold's und seiner Schüler ist es trotz der gegenteiligen, auf Grund makrochemischer Bestimmungen gewonnenen Resultate Gr. Kraus' nicht zweifelhaft, daß aufgespeicherte Gerbstoffmassen aus pflanzlichen Geweben verschwinden können; mit welcher weiteren Bestimmung, das bleibe zunächst unerörtert. Es fiel mir bei meinen Objekten auf, daß überall dort, wo in einem und demselben Gewebe gerbstoffund stärkeführende Zellen nebeneinander vorkommen, wo es sich also um differenzierte Gewebe im Sinne Berthold's handelt, Zunahme und Abnahme des Inhalts der betreffenden Zellen parallel liefen. In der Mehrzahl der Fälle ist allerdings das Schwinden der Stärke weitergehend als die Verdünnung der Gerbstofflösung, doch auch das Gegenteil konnte einmal beobachtet werden. Eine vergleichende Betrachtung der Figuren 1 (aus dem Längsschnitt durch das Basalpoister des Winterblattes von Prunus Laurocerasus) und 2 (aus dem Längsschnitt eines jungen Echeveria-Sprosses im Frühling) wird das Gesagte verdeutlichen. Wo die einen Zellen reichlich grobkörnige Stärke speichern wie im ersten Falle, dort zeigt die Fällung und dunkle Färbung der anderen eine hohe Gerbstoffkonzentration; wo die Stärkespeicherung eine geringe ist wie im zweiten Falle, dort ergibt auch die Gerbstoffreaktion eine niedrigere Konzentration. So konnte ich es bei gleicher Gewebestruktur überall beobachten, insbesondere wenn Individuen vergleichend untersucht wurden, die in unseren einseitig belichteten Gewächshäusern unter stark verschiedenen Beleuchtungsverhältnissen wachsen. Ich fand den Zusammenhang aber auch bei Prüfung fortschreitender Entwicklung, die allerdings auf Sproß und Blatt von Pelargonium malvaefolium und auf die Laub- und Blütenknospen von Obsthäumen beschränkt wurde

Ein im Winter aus einem Steckling gezogenes, stark beblättertes und verzweigtes Individuum von Pelargonium zeigte im Sommer des gleichen Jahres in Sprossen und Blättern reiche Speicherung. Rinde und Zentralmark des Sprosses, deren Struktur von Berthold geschildert wird,1 waren mit Stärke und Gerbstoff gefüllt, weniger die Blätter. Gegen den Herbst zu starben einige Blätter ab, eine deutliche Reduktion ihres Inhalts war zuvor nicht zu bemerken. In den Sprossen jedoch wurde der Abbau des gespeicherten Materials augenfällig, und zwar zunächst in den oberen Teilen (Fig. 3 der Tafel gibt ein Bild dieses Zustandes). So ging es weiter bis gegen den Winter. Im Winter (Untersuchungen fanden im Dezember und Jänner statt) waren alle oberirdischen Teile (Sprosse und die noch vorhandenen Blätter) sozusagen entleert: in den stärkeführenden Zellen gab es da und dort vereinzelte Stärkekörner, die Gerbstoffzellen reagierten mit äußerst schwachem Koagulum oder noch häufiger nur mit gelber Tönung. In der Nähe der Organneuanlagen, in diesen selbst und in wenigen peripheren Schichten der Rinde war Gerbstoff noch mehr als reichlich vorhanden, Stärke fast keine. Im darauf folgenden Frühling und Sommer hat die Pflanze bei reduzierter Belaubung geblüht und gefruchtet; die Speicherung in den oberirdischen Teilen erreichte den Zustand des Voriahres nicht.

Laub- und Fruchtknospen der Birne und die Tragsprosse in der Nähe der Knospen wurden im Februar in der vorhin geschilderten Weise mit Gerbstoff und Stärke vollgepfropft befunden. Anfangs März waren die Laubknospen noch in diesem Zustande, die Fruchtknospen hingegen, die bekanntlich eher zu springen beginnen als die Holzaugen, hatten ihr gespeichertes Material und das des tragenden Kurztriebes mobilisiert. Die Stärke war nahezu vollständig verschwunden, die Gerbstoffzellen zeigten auf die Behandlung mit dem Reagens hin selten und nur schwache Fällungen, meist nur gelbe Tönung. Nach zwei Wochen war auch bei den Laubknospen und ihrer Umgebung dieser Zustand erreicht. Ähn-

¹ Untersuchungen zur Physiologie usw., II., 1., p. 49 ff.

liche Verhältnisse wurden bei ruhenden und mit dem Triebe beginnenden Knospen der Weichsel und des Apfels angetroffen. In der Umgebung einzelner Apfelknospen war insofern eine Abweichung vom gewöhnlichen Verhalten festzustellen, als die Stärke des Rindenparenchyms sichtlich in geringerem Maße abgebaut erschien als die Gerbstoffe.

Diesen Fällen gleichzeitiger Füllung und Entleerung gesonderter Stärke- und Gerbstoffzellen in einem und demselben Gewebe¹ reihen wir ein anderes wechselseitiges Verhalten der beiden Stoffe an, das gewissermaßen im Gegensatz hierzu steht: der Abbau des einen Stoffes zum Zwecke der Speicherung des anderen in denselben Gewebselementen. Daß derartiges vorkommt, geht, wenn auch nicht eigens darauf hingewiesen wird, schon aus Berthold's Schilderung der Speicherzonen im wachsenden Sprosse und von deren Wandlungen hervor; auch Westermaier's Ergebnis mit dem geringelten Eichenzweige sei in diesem Zusammenhang erwähnt.3 Viele Bilder, die mir meine Schnitte boten, lassen sich in diesem Sinne deuten, so besonders die Verfolgung peripherer Schichten der Rinde von Holzgewächsen, der Speicherungsverhältnisse in den Markstrahlen und im Zentralmark, der Vergleich inhaltsreicher, verschieden alter Blätter desselben Individuums zum gleichen Zeitpunkt. In der Mehrzahl der angeführten Fälle räumt die Stärke dem Gerbstoff das Feld. Das Umgekehrte, das wir aus der älteren Literatur kaum irgendwo entnehmen können, habe ich gerade deshalb in einem Falle eingehender entwicklungsgeschichtlich verfolgt. Es wurde hierzu wieder das in allen Organen mehr oder weniger gerbstoffreiche Pelargonium gewählt,

Wie erinnerlich, waren im Winter die oberirdischen Teile dieser Pflanze weitgehend entleert: die Stärke fast vollständig

¹ Die mit der Speicherung von Stärke zeitlich zusammenfallende Bereicherung an Gerbstoff war schon Küstenmacher bei einigen Gallen aufgefallen. Vgl. beispielsweise a. a. O., p. 180.

² A. a. O., II., 1., 5. Kap. Zusammenfassende Übersicht über die Entwicklung und Rhytmik des Sprosses, p. 131 bis 257. Die stofflichen Zonen finden sich auf p. 164 zusammengefaßt.

 $^{^3}$ Neue Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Bedeutung des Gerbstoffes in den Pflanzengeweben, p. 132 bis 134, Taf. III, Fig. 4 a und 4 b.

verschwunden, der Inhalt der Gerbstoffzellen stark verdünnt. Nur in der Nähe der Organneuanlagen und in diesen selbst, ferner in den peripheren Schichten der Rinde verblieben Gerbstoffe mehr als reichlich. Den Inhaltszustand eines Sproßgipfels im Jänner zeigt Fig. 7 der Tafel. Wir sehen einen Teil des Querschnittes in etwa 2 mm Entfernung vom äußersten Vegetationspunkt: die dargestellte Region - ein Stück Markperipherie mit anschließendem, noch nicht fertig differenziertem Gefäßteile - ist mit Gerbstoff gefüllt, fast keine parenchymatische Zelle ist hier gerbstoffrei. Im März fand ich den Zustand erhalten; nur an ganz basalen, knapp ober der Erde befindlichen Knospen zeigte sich in einzelnen Zellen wieder Stärke. Im April nahm der Stärkegehalt zu, auch höher gelegene Knospen zeigten Stärke und am 2. Mai, knapp vor der Streckung der Blütenanlagen war in allen Triebspitzen der in Fig. 8 der Tafel dargestellte Zustand erreicht. Zur Darstellung wurde die gleiche Partie des Querschnittes gewählt wie bei Fig. 7; er stammt aus gleicher Entfernung vom Vegetationspunkte eines benachbarten Sproßgipfels, Gerbstoff erscheint zu dieser Zeit hier nahezu vollständig abgebaut und in gleichem Maße Stärke gespeichert. Sehr schön ist hierbei zu sehen, wie der Abbau der Gerbstoffe mit der Bildung von Stärke Hand in Hand geht, wie in den noch gelb getönten Zellen kleine Stärkekörnchen erscheinen.

Das Weichen der Gerbstoffe vor der sich ansammelnden Stärke zu dieser Zeit und in dieser Region ist gerade für Pelargonium, das sich wie die Crassulaceen in den fertigen Organen durch besondere Gerbstoffzellenzüge und -gruppen, durch inhaltlich differenzierte Gewebe im Sinne Berthold's auszeichnet, besonders bemerkenswert. Es zeigt, daß der physiologische Zustand der Zelle auch hier zeitweise wandelbar ist und daß es nicht leicht fällt, bei entwicklungsgeschichtlichen Studien aus gleichem Inhalt auf gleiche Genese der betreffenden Zellen in jedem Falle zu schließen, eine Schwierigkeit, die auch Berthold nicht außeracht gelassen.¹

¹ A. a. O., I., p. 150 und 151; II., 1., p. 136 und 137.

III.

Histologisch war die Frage nach der Beziehung zwischen Stärke- und Gerbstoffverteilung gestellt; sie kann anders auch nicht beantwortet werden. Die Beantwortung geht dahin, daß 1. innerhalb einer Pflanze, zu deren Organisation die Speicherung beider Stoffe gehört, Gerbstoff und Stärke in der Regel in einer und derselben Zelle nicht aufgestapelt werden, daß 2. in Geweben, die aus beiderlei Zellen zusammengesetzt sind, Speicherung und Abbau beider Stoffe sehr häufig parallel laufen, daß endlich 3. in homogenen Geweben oder Gewebezonen im Laufe der Entwicklung der eine Stoff dem andern das Feld räumt.

Was man aus diesen drei Tatsachen, von denen wir bald die eine, bald die andere je nach dem besonderen Augenmerk des Forschers bald mit Nachdruck hervorgehoben, bald verschwiegen, bald nur nebenbei als belanglos erwähnt finden, für den Stoffwechsel der Pflanze und des weiteren für die »Bedeutung« der Gerbstsoffe abgeleitet hat, ist bekannt und im wesentlichen eingangs dargelegt worden. Es ist auch klar, daß alle Schlußfolgerungen mindestens so lange in der Luft hängen, als es der chemischen Forschung nicht gelungen, die gewünschten Zusammenhänge oder deren Möglichkeit zu erweisen. In dieser Beziehung hat die Gerbstoffchemie in neuerer und jüngster Zeit bedeutende Fortschritte zu verzeichnen. Daß schließlich jeder im Pflanzenkörper auftretende organische Stoff auf die Produkte der Photosynthese zurückgeht, ist selbstverständlich, fraglich aber blieb es doch, ob die Beziehung der Gerbstoffe zu den löslichen und wanderungsfähigen Kohlenhydraten eine so nahe und innige sei, wie sie das histologische Bild der Gerbstoff-Stärkeverteilung nahelegt.

Das Bestreben, vagen Vermutungen möglichst auszuweichen, mag wohl auch mit Grund gewesen sein, warum seinerzeit soviel Mühe auf die Aufdeckung von »Gerbstoffbrücken« verwendet wurde und wir immer wieder ausdrücklich auf den histologischen Zusammenhang der Gerbstoffzellen verwiesen werden, der freilich häufig nicht besteht. Selbst Gr. Kraus, vor dem die mikroskopisch-anatomischen Befunde in der

Gerbstoffrage, zum Teil wohl mit Recht, wenig Gnade gefunden, läßt in dieser Beziehung die ausgedehnten eigenen anatomischen Untersuchungen als Stütze gelten.¹ Durch die Versuche Büsgen's mit abgeschnittenen Blättern, die, auf Zuckerlösung im Dunkeln kultiviert, sich an Gerbstoff bereicherten,² ist der innige Zusammenhang wohl nicht mehr zweifelhaft und Euler³ zeigt eine Möglichkeit, wie über Inosit, beziehungsweise Quercit oder über Chinasäure durch Oxydation die Gallussäure entstehen könnte.

Liegen nun auch die zweifellos nahen und leichten Stoffumsätze von Zucker zu den Phenolkarbonsäuren noch nicht völlig klar, so verdanken wir den Untersuchungen Emil Fischer's und K. Freudenberg's eine nahezu vollkommene Einsicht in die Bindung dieser Säuren mit weiterem Kohlehydratmaterial zu Gerbstoffen.4 Nach den Genannten entspricht die Zusammensetzung des reinen Tannins am besten einer esterartigen Koppelung der Digallussäure an Glukose und, was an entsprechend großen Molekülen diesen Synthetikern bis heute darzustellen geglückt ist, schafft der Auffassung einenahezu einwandfreie Stütze. Mit solchen Erkenntnissen kann nun das histologische Bild, soweit die Stoffspeicherung in Betracht kommt, recht wohl in Einklang gebracht werden. Stärke und Gerbstoff stammen aus den gleichen, dem Gewebezuströmenden oder in den assimilierenden Zellen gebildeten Zuckermassen. Die eine Zelle kondensiert den Zucker zu Stärke, die nebenanliegende verarbeitet und oxydiert ihn zu Phenolcarbonsäuren, die eine Zelle bereichert sich zusehendsmit Stärke, die nebenanliegende verestert mit dem gleichen Material die Säuren zu Gerbstoffen. Zunahme hier und dort

¹ Grundlinien zu einer Physiologie des Gerbstoffes, VI. Abschn.: Beleuchtung der Gerbstoffanatomie, p. 48 u. ff.

² M. Büsgen, Beobachtungen über das Verhalten des Gerbstoffes. Jena 1889.

³ H. Euler, Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, II. und III., Braunschweig 1909, p. 222 und 223.

⁴ E. Fischer und K. Freudenberg, Über das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe. Ber. der Deutsch. chem. Gesellsch., XLV., 1912, p. 915 ff. und p. 2709 ff.; weitere Arbeiten in den folgenden Jahrgängen.

bei wechselseitiger Ausschließung des gespeicherten Stoffes. Ausgerüstet mit den gleichen Erkenntnissen wird uns auch das Weichen der Stärke vor dem zunehmenden Gerbstoff im inhaltlich homogenen Gewebe oder in einer und derselben Zelle verständlich. Die Stärke kann zweifellos das Zuckermaterial liefern, aus dem die Phenolsäuren stammen und das zu deren weiteren Veresterung notwendig ist.

Anders verhält es sich mit den Bildern, durch die uns eine Abnahme der aufgespeicherten Gerbstoffmassen vor Augen geführt wird, sei es durch ihre gleichzeitig mit dem Abbau der Stärke der Nachbarzelle erfolgende Verdünnung, sei es durch die Räumung einer gerbstoffhaltigen Gewebezone oder Zelle für die Aufstapelung von Stärke. Hier fehlen uns die notwendigen Anhaltspunkte bezüglich des Stoffumsatzes vollkommen. Neben den vorhandenen großen Schwierigkeiten ist dies auch dadurch begründet, daß der Forschungssinn der meisten Chemiker und Biochemiker unter dem Einfluß der sichtlichen Bereicherung dem Tode geweihter Pflanzenteile - wie Gallen, Rinden, Hölzer, Frucht- und Samenschalen - an Gerbstoffen nun einmal darauf gerichtet ist, in den Gerbstoffen Produkte der Rückbildung zu sehen, denen ausschließlich eine ökologische, zumeist konservierende¹ Bedeutung zugesprochen wird. Aber daneben ist der Abbau gespeicherter Gerbstoffmassen Tatsache. Sie wird freilich dem Mikroskopiker viel eher zum Bewußtsein gebracht als dem mit Pflanzenextrakten arbeitenden Forscher, der ein in gleicher Weise differenziertes und unverändertes Material niemals unter die Hände bekommt.

In diesem Zusammenhang möchte ich noch nachträglich eines Befundes gedenken, der dem Makrochemiker kaum je zum Bewußtsein gekommen wäre und der am leichtesten dadurch verständlich wird, daß nicht selten innerhalb eines Gewebes da und dort oxydable Phenolderivate erscheinen,

¹ Daß die antiseptische Wirkung keine allgemeine Bedeutung hat, ist wohl nach gewonnenen Erfahrungen nicht mehr zweifelhaft. Vergl. C. Wehmer, Zur Resistenz des Eichenholzes gegen Hausschwammwirkung infolge des Gerbstoffgehaltes. Ber. der Deutsch. bot. Gesellsch., XXXII., 1914, p. 213 ff. und Czapek, Biochemie der Pflanzen, II. (1. Aufl.), p. 571.

um sehr bald darauf wieder zu verschwinden: In den Geweben von Sproß und Blatt der Labiate Phlomis ferruginea, die zu verschiedenen Zeiten untersucht wurde, konnte Gerbstoff stets nur in recht bescheidenen Mengen und zumeist auf periphere Schichten beschränkt nachgewiesen werden. Unter den zahlreichen, möglichst gut geführten Schnitten durch ein Organ oder Organstück wurde gleichwohl nicht selten der eine oder andere Schnitt angetroffen, innerhalb dessen sich in vereinzelten Zellen des Zentralmarkes aus der Umgebung der Gefäßbündel und in Elementen der Bündel selbst stärker konzentrierte Lösungen oxydabler Stoffe nachweisen ließen.

Wenn man die Ansammlung der Gerbstoffe allein im Auge behält, die zweifellos das auffälligere Geschehen ist, so wird die Zustimmung zu einem Gedanken leicht, der von Emil Fischer in einem, jedem Teilnehmer unvergeßlichen Vortrag anläßlich der Naturforscherversammlung zu Wien im Jahre 1913 über die Bedeutung der Gerbstoffe ausgesprochen wurde: Der Organismus verträgt im allgemeinen keine freie Säure; wo sich solche bildet, wird sie zu Salzen, zu Amiden oder zu Estern neutralisiert; die Phenolsäuren werden durch Azylierung des in der Pflanze reichlich verfügbaren Zuckers in esterartiger Bindung unschädlich gemacht.

Solcher Auffassung gemäß verdanken die Gerbstoffe ihre Entstehung dem gleichen Bedürfnisse wie etwa der oxalsaure Kalk. Und es gibt mikroskopische Bilder, die uns nach dieser Richtung ansprechen: Die ruhende Laubknospe, die, plastisch vollendet, nur der Streckung harrt, führt neben Stärke und Gerbstoff reichlich oxalsauren Kalk, das bekannte Oxalatnest Alfred Fischer's.² Die Sachlage ändert sich aber vor dem Triebe, wenn mit der zum Ausbau und zur Erweiterung der Membranen und zum Teil zur Lieferung der Wachstumsenergie notwendigen Stärke auch

¹ Veröffentlicht in Ber. der Deutschen chem. Gesellsch., XLVI., 1913, p. 3253: Synthese von Depsiden, Flechtenstoffen und Gerbstoffen, p. 3285 und 3286.

² A. Fischer, Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse. Jahrb. für wissensch. Bot., 22., 1890, p. 121.

Gerbstoff mikroskopisch merklich abnimmt, während der oxalsaure Kalk als unveränderliches Produkt liegen bleibt.

Was mit den verschwindenden Gerbstoffmassen weiter geschieht, läßt sich nicht sagen. Keinesfalls ist ihr Weichen vor der sich ansammelnden Stärke, wie im Falle Pelargonium, als einfache Umwandlung zu deuten. Abgesehen vom Mangel entsprechender chemischer Kenntnisse spricht die schrittweise und allmählich erfolgende Bereicherung immer höher gelegener Sproßspitzen mit Stärke eher für ein Zurückwandern gelösten Kohlenhydratmaterials aus den unterirdischen Organen nach oben, zu dessen Speicherung die Gerbstoffe das zuvor nahezu ganz in Anspruch genommene Feld räumen. Ob diese selbst hierbei eine Spaltung erfahren, bei der ihre mehr oder weniger azylierten Zucker¹ weiter plastisch verwertet, ihre Säuren aber zu Wasser und Kohlensäure veratmet werden oder ob andere Umlagerungen vor sich gehen, die entweder dem plastischen Stoffwechsel oder, wie seinerzeit Kutscher² und neuerlich Arnhold, dieser in Anlehnung an Ideen seines Lehrers Reinke und Palladin's,3 vermuteten und wie es Gerber bei reifenden Früchten von Diospyros kaki wahrscheinlich machte,4 ausschließlich dem Betriebsstoffwechsel zugute kommen, bleibt unentschieden. Eines aber steht fest: an die Seite aus dem Stoffwechsel ausgeschalteter, nutzloser oder bloß in verschiedenem Belang schützend wirkender Stoffe gehören diese Tannoide nicht.

Zusammenfassung.

 Freies Jod kann in Spuren ohne Schädigung des lebenden Plasmas in die Zelle dringen und veranlaßt die im Zellsafte gelösten Gerbstoffe zur allmählichen Bildung fester, nahezu

¹ Nach E. Fischer (a. a. O., 1913, p. 3284) dürften partiell azylierte Zucker und mehrwertige Alkohole, die sich durch leichte Wasserlöslichkeit auszeichnen, sehr häufig sein.

² E. Kutscher, Über die Verwendung der Gerbsäure usw., p. 73.

³ W. Arnhold, Über das Verhalten des Gerbstoffes bei Gunnera, p. 33 und 34.

⁴ Vgl. Czapck, Biochemie der Pflanzen, II. (1. Aufl.), p. 590.

unangreifbarer und gut gekennzeichneter Körper von verschieden getönter brauner Farbe.

- 2. Hierbei handelt es sich mit Wahrscheinlichkeit um Oxydationsprodukte, die den Phlobaphenen nahestehen oder vielleicht Phlobaphene sind, zu deren Bildung das Jod dadurch Veranlassung geben dürfte, daß es aus Wasser Sauerstoff befreit oder nebenbei aus dem Molekül des gelösten Stoffes Wasserstoff bindet. Damit wird die Fortführung der in der lebenden Zelle unterbrochenen Oxydation unter Mitwirkung oxydierender Enzyme ermöglicht.
- 3. Die Reaktion, die längere Zeit beansprucht, gelingt nur dann, wenn das Plasma die Exosmose der Gerbstofflösung so lange verhindert, mithin so lange nicht Schaden leidet, bis die unlöslichen Produkte im Saftraum ganz oder nahezu fertig sind. Hierzu ist erforderlich, daß jede Konzentrationssteigerung der dargebotenen Jodlösung möglichst lange vermieden werde. Daraus erklärt sich die auf p. 4 ff. mitgeteilte Vorschrift.
- 4. Die nach Vorschrift angewandte Jodgerbstoffprobe, die bei Benutzung anderer Halogene nicht zu gleichem Ergebnisse führt, läßt sich den üblichen Gerbstoffreaktionen der pflanzlichen Mikrochemie gleichwertig an die Seite stellen, übertrifft alle an Sauberkeit, steht ihnen jedoch an Empfindlichkeit etwas nach. Verwechslungen sind, wenn überhaupt, nur mit widerstandsfähigen Jodfettprodukten möglich.
- 5. Der größte Vorteil der Reaktion liegt in der gleichzeitigen und kontrastreichen Hervorhebung von Gerbstoffen und Stärke im histologischen Bilde. Hierbei ergab das untersuchte Material, das verschiedenen Verwandtschaftskreisen der Blütenpflanzen entnommen wurde, folgendes:
- a) Innerhalb einer Pflanze, zu deren Organisation die Speicherung beider Stoffe gehört, wird Gerbstoff und Stärke in der Regel in einer und derselben Zelle nicht aufgestapelt;
- b) in pflanzlichen Geweben, die aus beiderlei Zellen zusammengesetzt sind, laufen Speicherung und Abbau der beiden Stoffe sehr häufig parallel;

- c) in inhaltlich homogenen Geweben oder Gewebszonen räumt im Laufe der Entwicklung der eine Stoff dem anderen das Feld.
- 6. Stehen die gewonnenen Einblicke zum Teil in guter Übereinstimmung mit der Vorstellung, die uns E. Fischer und K. Freudenberg über die nahen Beziehungen zwischen Gerbstoffen und Kohlenhydraten geschaffen und begründet haben, so bietet andererseits der zweifellos häufige Abbau der Gerbstoffe keinen Anhaltspunkt, aus dem irgend etwas gefolgert werden könnte, das sich nicht schon in der umfangreichen Literatur über diese Frage vorfindet oder der eine entscheidende Auswahl aus den geäußerten Meinungen und Vorstellungen gestattete.

Zurückzuweisen ist indes die Auffassung, wonach alle Gerbstoffe bedeutungslose oder nur in verschiedenem Belange schützend wirkende Exkrete sein sollen.

Erklärung der Abbildungen.

- Aus dem Längsschnitt durch das Basalpolster eines Blattes von Prunus-Laurocerasus L. im Jänner. Innere Region der kollenchymatischen Rinde. Vergr. 113.
- Aus dem Längsschnitt durch den jungen Sproß von Echeveria sp. im März. Rinde und Parenchymscheide. Vergr. 36.
- 3. bis 6. Aus dem Querschnitt durch den Sproß von Pelargonium malvacfolium Jacq. Vergr. 113, und zwar:
 - Das periphere Mark mit normaler Gerbstoff- und Stärkereaktion im Zustand mittleren Gehaltes.
 - Rinde mit den Entwicklungsstadien der Reaktion von rechts nach links,¹
 - Peripheres Mark mit unterbrochener Reaktion und nach Alkoholbehandlung.
 - Rinde, unrichtig behandelt. Die Gerbstoffällungen liegen größtenteilszwischen Plasma und Membran (A) und sind alkohollöslich (B)_r wobei der Plasmaschlauch sich zusammenzieht.
- Aus dem Querschnitt durch den Sproßgipfel von Pelargonium malvaefolium in etwa 2 mm Entfernung vom äußersten Vegetationspunkt im Jänner. Markperipherie mit anschließendem Gefäßteile. Vergr. 113.
- Dasselbe anfangs Mai, vor Beginn der Streckung der Blütenanlagen-Vergr. 113.

¹ Aus Raumersparnis in eine Geweberegion zusammengezogen. In Wirklichkeit verteilen sich die dargestellten Stadien über den ganzen Organquerschnitt.